UNIVERSITY OF HAWAII
LIBRARY
JAN 29 '52

EXPERIENTIA

EST EXPERIENTIA SCIENTIA PARACELSUS

REVUE MENSUELLE DES SCIENCES PURES ET APPLIQUÉES
MONATSSCHRIFT FÜR DAS GESAMTE GEBIET DER NATURWISSENSCHAFT
RIVISTA MENSILE DI SCIENZE PURE E APPLICATE
MONTHLY JOURNAL OF PURE AND APPLIED SCIENCE

EDITORES:
A. v. MURALT · L. RUZICKA · J. WEIGLE
BERN ZÜRICH GENÈVE

REDACTOR: H. MISLIN, BASEL

Vol. VII · 1951

VERLAG BIRKHÄUSER · BASEL
SUISSE - SCHWEIZ - SVIZZERA - SWITZERLAND

PRINTED IN SWITZERLAND

Digitized by the Internet Archive
in 2023 with funding from
Kahle/Austin Foundation

https://archive.org/details/cellular-and-molecular-life-sciences_1951_7_1

UNIVERSITY OF HAWAII
LIBRARY
MAR 6 '51

EXPERIENTIA

REVUE MENSUELLE DES SCIENCES PURES ET APPLIQUÉES
MONATSSCHRIFT FÜR DAS GESAMTE GEBIET DER NATURWISSENSCHAFT
RIVISTA MENSILE DI SCIENZE PURE E APPLICATE
MONTHLY JOURNAL OF PURE AND APPLIED SCIENCE

Editores:
A. v. MURALT · L. RUZICKA · J. WEIGLE
Bern Zürich Genève
Redactor: H. MISLIN, Basel

VERLAG BIRKHÄUSER AG. · BASEL 10
SUISSE - SCHWEIZ - SVIZZERA - SWITZERLAND

Vol. VII. – Fasc. 1 15. I. 1951 Fr. 3.–

SOMMAIRE - INHALT - SOMMARIO - CONTENTS

W. KUHN und B. HARGITAY: Muskelähnliche Kontraktion und Dehnung von Netzwerken polyvalenter Fadenmolekülionen 1
Z. M. BACQ: L'action indirecte du rayonnement X et ultra-violet 11
L. MUSAJO e D. COPPINI: La determinazione degli acidi chinurenico e xanturenico 20

Brèves communications - Kurze Mitteilungen - Brevi comunicazioni - Brief Reports

G. CALCUTT: The formation of Hydrogen Peroxide during the Autoxidation of Ascorbic Acid 26
D. SHUGAR: Photoreactivation in the near Ultra-violet of D-Glyceraldehyde-3-Phosphate Dehydrogenase 26
W. TATERKA, A. DEMOLIS und R. URSPRUNG: Über die tuberkulostatische Wirksamkeit einiger Derivate der para-Aminosalizylsäure 28
G. BACCI: On two Sexual Races of *Asterina gibbosa* (Penn.) 31
B. JACOT: Influence du jeune sur les oscillations nycthémérales du fer sérique 33
A. FRANCESCHETTI, ED. FROMMEL et P. JÖHR: De l'influence de l'acétylcholine sur la perméabilité oculaire 35

Nouveaux livres - Buchbesprechungen - Recensioni - Reviews

Sampling Methods for Censuses and Surveys. By Frank Yates (Charles Griffin & Co. Ltd., London, 1949) (Ref. A. Linder) 36
Das Atom endlich verständlich. Von Fritz Kahn (Verlag Albert Müller, Rüschlikon, 1949) (Ref. J. O. Fleckenstein) 37
Fluorescence and Phosphorescence. By Peter Pringsheim (Interscience Publishers, New York, 1949) (Ref. H. Kuhn) 37
Die theoretischen Grundlagen der analytischen Chemie. Von Gunnar Hägg (Verlag Birkhäuser, Basel 1950) (Ref. W. D. Treadwell) 38

Informations - Informationen - Informazioni - Notes

Studiorum progressus: O. BUCHER et J.-TH. WEIL: L'influence d'un Extrait osseux (Ossopan) sur la consolidation de fractures *in vitro* 38
Corrigendum 40

EXPERIENTIA

EST EXPERIENTIA SCIENTIA PARACELSUS

L'EXPERIENTIA publiera:

1. des *articles originaux* sur les récentes recherches scientifiques écrits dans une des langues principales;
2. de *brèves communications;*
3. informera ses lecteurs des événements marquants de la vie scientifique, donnera des *comptes rendus concernant les récentes publications, les congrès et les assemblées.*

Die EXPERIENTIA stellt sich die Aufgabe:

1. durch *zusammenfassende Originalartikel* in einer der wissenschaftlichen Hauptsprachen von Autoren aus verschiedenen Ländern über Forschungsergebnisse berichten zu lassen, die im Vordergrund des Interesses stehen;
2. kurze *Mitteilungen* aufzunehmen;
3. durch Besprechung neuerschienener *Bücher,* durch Referate über *Kongresse* und *Versammlungen* sowie durch andere Mitteilungen über die bedeutendsten Ereignisse des naturwissenschaftlichen Lebens zu informieren.

EXPERIENTIA si propone di pubblicare:

1. *articoli originali riassuntivi,* in una delle principali lingue usate dalla scienza, ad opera di autori di diversi paesi, su risultati scientifici di grande interesse;
2. *brevi comunicazioni;*
3. *recensioni di nuovi libri, relazioni di congressi e riunioni,* come pure altre comunicazioni su importanti avvenimenti nel campo delle scienze naturali.

The aim of EXPERIENTIA is:

1. to publish comprehensive articles embodying the results of recent scientific research. These will be written in one of the principal scientific languages and contributed by authors in various countries;
2. to publish *brief reports;*
3. to give information about the most important events in natural science by means of *reviews of the latest books, reports on congresses and meetings,* as well as through other communications.

E X P E R.

L'EXPERIENTIA paraît le 15 de chaque mois. Vente et abonnement dans toutes les librairies suisses et étrangères, ou directement chez l'éditeur. Prix du numéro fr. 3.–. Abonnement pour un an fr. 28.— pour la Suisse; pour l'étranger fr. 34.—. Ces prix s'entendent en francs suisses.

Adresser toute correspondance touchant la rédaction de l'EXPERIENTIA exclusivement à l'éditeur soussigné.

Dernier délai d'admission pour les manuscrits: 35 jours avant la parution, c'est-à-dire le 10 du mois pour le numéro du mois suivant

Les auteurs recevront gratuitement, s'ils le désirent, 50 tirés à par. de format 14,5 sur 21 cm, sans couverture. Pour le prix d'un nombre plus grand et pour la couverture s'adresser à l'éditeur. Les tirages à part doivent être commandés *avant* l'impression du périodique.

Prix pour les annonces: $^1/_1$ page fr. 200.—, $^1/_2$ page fr. 120.—, $^1/_4$ page fr. 70.—. Placements spéciaux: prix sur demande. Demandes à l'éditeur.

L'EXPERIENTIA est imprimée en Suisse.

Editions Birkhæuser S.A., Bâle 10 (Suisse), Elisabethenstrasse 15
Tél. 49800; adresse télégraphique: Edita Bâle

Die EXPERIENTIA erscheint am 15. jedes Monats und kann im In- und Auslande durch jede Buchhandlung oder direkt vom Verlag bezogen werden. In Belgien, Dänemark, Deutschland, Finnland, Italien, Luxemburg, Marokko, Norwegen, Portugal, Schweden und Tschechoslowakei nehmen auch die Postämter Bestellungen entgegen.

Der Abonnementspreis beträgt in der Schweiz Fr. 28.—, im Ausland sFr. 34.—; die Einzelnummer kostet Fr. 3.–.

Alle Zuschriften an die Redaktion sind ausschließlich an den Verlag zu richten. Redaktionsschluß 35 Tage vor Erscheinungstermin, d. h. am 10. des Monats für den folgenden Monat.

Die Autoren erhalten auf Wunsch 50 Gratisseparata im Format 14,5 × 21 cm, ohne Umschlag. Die Kosten für weitere Separata und für Umschläge sind beim Verlag zu erfragen. Separata sind *vor* dem Druck der Zeitschrift zu bestellen.

Insertionspreise: $^1/_1$ Seite Fr. 200.—, $^1/_2$ Seite Fr. 120.— $^1/_4$ Seite Fr. 70.—; für Vorzugsseiten besondere Vereinbarung. Inseratenannahme durch den Verlag.

Die EXPERIENTIA wird in der Schweiz gedruckt.

Verlag Birkhäuser AG., Basel 10 (Schweiz), Elisabethenstraße 15
Tel. 49800; Telegrammadresse: Edita Basel

EXPERIENTIA esce al 15 di ogni mese e può esser richiesta ad ogni libreria svizzera o estera, o anche direttamente alla casa editrice. Il prezzo del singolo fascicolo è di fr. 3.–. L'abbonamento annuo è di fr. 28.— per la Svizzera; all'estero fr. 34.—. I prezzi vanno intesi in valuta svizzera.

Tutti gli invii alla redazione di EXPERIENTIA vanno indirizzati esclusivamente alla sottoindicata casa editrice.

La redazione di ogni fascicolo si chiude 35 giorni prima del termine di pubblicazione, cioè al 10 del mese, per il mese seguente.

Gli autori ricevono, su desiderio, 50 estratti del formato 14,5 × 21 cm, senza copertina. Il prezzo degli estratti in più e della copertina viene indicato, su richiesta, dalla casa editrice. Gli estratti vanno ordinati *prima* della stampa della Rivista.

Prezzi per annunci: $^1/_1$ pag. fr. 200.—, $^1/_2$ pag. fr. 120.—, $^1/_4$ pag. fr. 70.—; per pagine speciali, accordi da stabilire. Gli annunci sono da inviare alla casa editrice.

EXPERIENTIA si stampa in Isvizzera.

Casa editrice Birkhæuser S.A., Basilea 10 (Svizzera), Elisabethenstr. 15
Tel. 49800; Indirizzo telegrammi: Edita Basilea

EXPERIENTIA is published on the 15th of every month and can be obtained in any country through the booksellers or from the publishers. The price per number is fr. 3.–, by annual subscription by inland-mail fr. 28.—; other countries fr. 34.—. Prices in Swiss currency.

All communications to the editors should be addressed to the publishers. All manuscripts for publication in a given number must be in the hands of the publishers on the 10th of the preceding month.

The authors receive, on request, 50 reprints 14,5 × 21 cm without cover free of charge. For the prices of additional reprints and covers, inquiries should be addressed to the publishers. Reprints must be ordered *before* the number is printed.

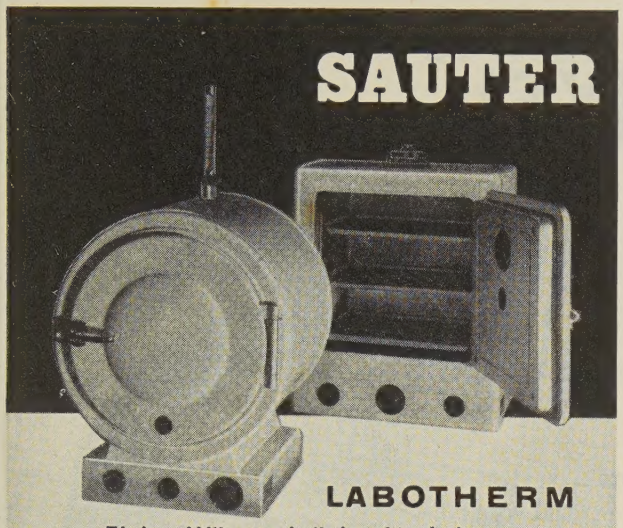
Prices for advertising: $^1/_1$ page fr. 200.—, $^1/_2$ page fr. 120.—, $^1/_4$ page fr. 70.—. Advertisements should be sent to the publishers.

Published by Birkhäuser Ltd., Basle 10 (Switzerland), Elisabethenstr. 15
Phone 49800; Telegrams: Edita Basle

Printed in Switzerland / E. Birkhäuser & Cie., Basel

Verzeichnis der Inserenten – Liste des annonceurs – List of Advertisers – Experientia VII/1

CIBA AG., Basel
Kern & Co. AG., Aarau
Cilag AG., Schaffhausen
Sauter AG., Basel
Trüb, Täuber & Co. AG., Zürich
Birkhäuser AG., Basel
Ganz & Co., Zürich
Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft, Stuttgart
Umschau-Verlag, Frankfurt a. M.



SAUTER

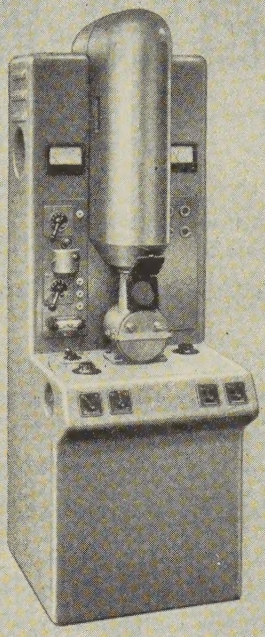
LABOTHERM

Elektr. Wärmeschränke für Laboratorien

Prüfschränke für Farben und Lacke
Härteprüfung von Kunststoffen
Dichte - Feuchtigkeit - Säuregehalt-
prüfungen, Vorwärmung u.s.w.
Trockenschränke, Sterilisatoren
Brut- und Labschränke, Vakuumschränke

FR. SAUTER A.G.,
FABRIK ELEKTRISCHER APPARATE, BASEL

Universal Kathodenstrahloszillograph



Der Oszillograph eignet sich besonders für Stossprüfanlagen und Untersuchungen von Abschaltvorgängen usw.

Seine Hauptdaten sind folgende:
Eingebaute Hochspannungsanlage für 15, 25, 35 und 45 kV.

Empfindlichkeit in V/mm:
für die Zeitachse:
0,55 × Anodenspannung in kV;
für die Meßspannung:
0,44 × Anodenspannung in kV.

Strichschärfe: 0,03—0,3 mm.
log. Zeitablenkung 1 μs—1000 μs
lin. Zeitablenkung 1000 μs—1 s
einmalig und wiederholt

Einschwingzeit: 0,2 μs
Registrierformat: 6 × 6 cm
Registriervermögen: 10—15 Perioden pro mm.

Trüb, Täuber & Co. AG.

Fabrik elektrischer Meßinstrumente und wissenschaftlicher Apparate, Zürich

Q1
A1E9

Zeitschrift für angewandte Mathematik und Physik

Journal of Applied Mathematics and Physics
Journal de Mathématiques et Physique appliquées
ZAMP

Editores: J. Ackeret, E. Baumann, P. Niggli, P. Scherrer, E. Stiefel, F. Stüssi, H. Ziegler *Redactor:* R. Sänger

Inhalt von Nr. II/1:

Zusammenfassende Berichte: H. Rutishauser, A. Speiser, E. Stiefel: Programmgesteuerte digitale Rechengeräte (Elektronische Rechenmaschinen), III. Teil. – *Originalarbeit:* G. Klobe und O. Scholze: Neue Lösungsmethode einer Differentialgleichung 2. Ordnung und deren Anwendung auf die Flugbahnberechnung. – *Kurze Mitteilungen:* A. Stern: Zur Theorie der Wechselstromschaltungen für Entladungslampen. – E. Baş-taymaz: Elektronenemissionsmessungen an Systemen Wolfram-Kohlenstoff und Molybdän-Kohlenstoff. – *Varia:* A. Pfluger: The International Congress of Mathematicians at Cambridge (Mass. USA) August, 30th to September, 6th., 1950. – *Buchbesprechungen.*

Jahresabonnement (6 Nummern): Inland Fr. 28.–, Ausland Fr. 34.–, Einzelnummer Fr. 6.–
Annual subscription (6 issues): Switzerland Fr. 28.–, other countries Fr. 34.–, single copy Fr. 6.–
Abonnement annuel (6 numéros): Suisse Fr. 28.–, étranger Fr. 34.–, le numéro Fr. 6.–.

Verlangen Sie bitte auf Grund dieses Inserates eine Gratis-Probenummer.

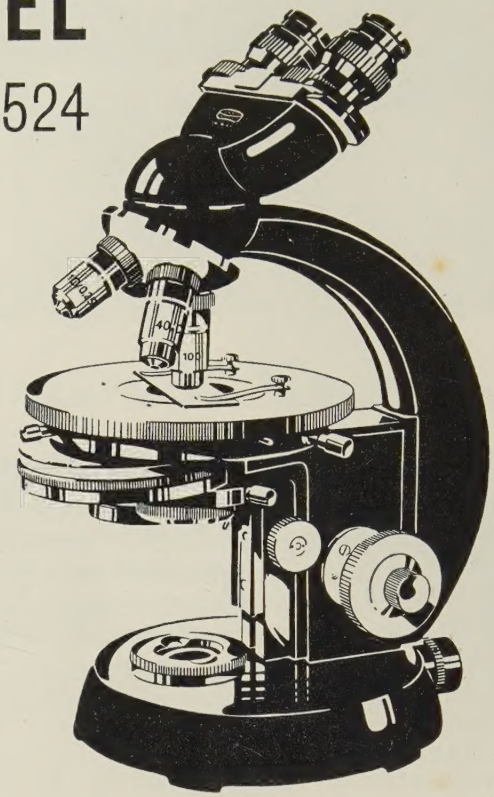
Zu beziehen durch Ihre Buchhandlung

VERLAG BIRKHÄUSER BASEL / SCHWEIZ

NEUES ZEISS-WINKEL
STANDARD-MIKROSKOP GF 524

- **Lichtstarke Einbaubeleuchtung (Köhler'sches Prinzip)**
- **Koaxial gelagerte Triebknöpfe für Grob- und Feineinstellung**
- **Neuartiger Gleittisch (Fettfriktion)**
- **Vollkommener Präparatschutz durch gefederte Fassung der Objektive**
- **Vergrösserungswechsler für die Okulare**
- **Vereinigter Hellfeld-Phasenkontrast-Dunkelfeld-Kondensor**

Auskunft und Vorführung durch die Generalvertretung für die Schweiz:



GANZ & Co Zürich
Bahnhofstrasse 40
Tel. (051) 23 97 73

Beihefte zur Zeitschrift

« Elemente der Mathematik »

Je 24 Seiten

Heft 1: **Spannung und Spannungstensor.** Von *H. Schüepp*, Zürich, 1947. Mit 25 Figuren. Fr. 3.—.

Heft 2: **Jakob Steiner.** Par *L. Kollros*, professeur à l'Ecole Polytechnique Fédérale Zurich, 1948. Avec 2 portraits et 1 fac-similé. Fr. 3.50.

Heft 3: **Leonhard Euler.** Von *R. Fueter*, em. Prof. an der Universität Zürich, 1948. Mit 2 Porträts und 1 Faksimile. Fr. 3.50.

Heft 4: **Ludwig Schläfli.** Von *J. J. Burckhardt*, Professor an der Universität Zürich, 1948. Mit 2 Porträts, 2 Strichzeichnungen und 1 Faksimile. Fr. 3.50.

Heft 5: **Jost Bürgi.** Von *E. Voellmy*, Basel, 1948. Mit 1 Porträt und 2 Wiedergaben der ersten Logarithmentafeln aus dem Jahre 1620. Fr. 3.50.

Heft 6: **Johann und Jakob Bernoulli.** Von *J. O. Fleckenstein*, Privatdozent an der Universität Basel, 1949. Mit 2 Porträts, 2 Faksimiles und 4 Figuren. Fr. 3.50.

Heft 7: **Evariste Galois.** Par *L. Kollros*, professeur à l'Ecole Polytechnique Fédérale Zurich, 1949. Avec 1 portrait et 1 fac-similé. Fr. 3.50.

Heft 8: **Niels Henrik Abel.** Par *O. Ore*, professeur à l'Université Yale, New Haven, 1950. Avec 1 portrait et 1 fac-similé. Fr. 3.50.

Heft 9: **Gaspard Monge.** Par *René Taton*, attaché de recherches au C. N. R. S., Paris, 1950. Avec un portrait et un fac-similé. Fr. 3.50.

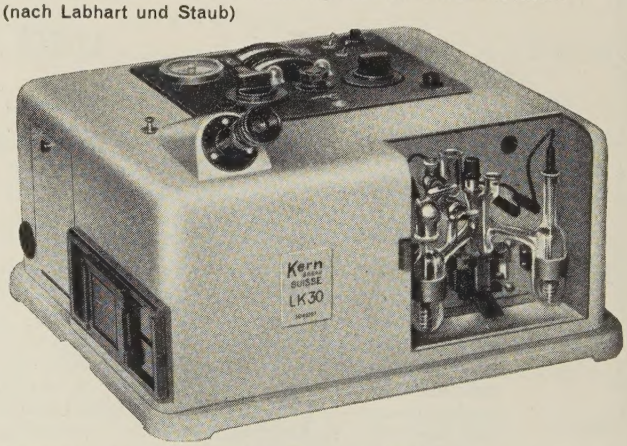
Heft 10: **Pierre Fermat.** Par *Jean Itard*, professeur au Lycée Henri IV, Paris, 1950. Avec un portrait, un fac-similé et cinq figures. Fr. 3.50.

Zu beziehen durch Ihre Buchhandlung

VERLAG BIRKHÄUSER BASEL

Mikro-Elektrophoreseapparat Kern LK 30

mit interferometrischer Ausmessung der Konzentrationsstufen (nach Labhart und Staub)



Benötigte Lösungsmenge 0,4 cm³. Genauigkeit ca. 2,5% bei 1%iger Lösung. Spiegelreflex-Kamera, automatische Bildnumerierung, kein Thermostat, sofortige Betriebsbereitschaft, Spezialzelle für Diffusionsversuche. Maße: 40 x 46 x 28 cm; Gewicht: 24 kg.
Anwendungen: Serum und Plasma, Rückenmarksliquor, Organ-Eiweiße, Fermente, Immunisierungsvorgänge, Chemie der Hochmolekularen usw. - Prospekt Med. 505/2 auf Verlangen.

Kern & Co. AG., Aarau
Werkstätten für Präzisions-Mechanik und Optik
Gegründet 1819 Telephon (064) 2 11 12

Kern AARAU

EXPERIENTIA

Vol. VII - Fasc. 1 Pag. 1–40 15. I. 1951

Muskelähnliche Kontraktion und Dehnung von Netzwerken polyvalenter Fadenmolekülionen[1]

Von W. KUHN[2] und B. HARGITAY[2]

1. *Einleitung*

Ein Muskel leistet bekanntlich dadurch Arbeit, daß er sich verkürzt; das Volumen bleibt bei dem Vorgange annähernd konstant, so daß mit der Verkürzung oder Arbeitsleistung eine entsprechende Vergrößerung der Querdimensionen verbunden ist.

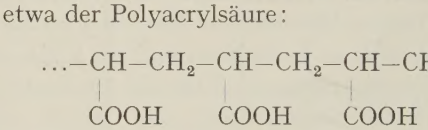
Wir glauben, daß wir berechtigt sind, die Muskelkontraktion mit einer Änderung der Gestalt von Molekülen, und zwar von hochpolymeren Fadenmolekülen, in Zusammenhang zu bringen, und daß diese Formänderungen möglicherweise durch Änderung der elektrischen Aufladung der Moleküle infolge elektrolytischer Dissoziation herbeigeführt werden. Eine Stütze dafür, daß wir eine solche Aussage als möglich ansehen dürfen, sind erstens die im Folgenden zu beschreibenden Versuche, durch welche eine Formänderung von Fadenmolekülen *in Lösung* durch Änderung der elektrischen Aufladung derselben erzielt wird, und zweitens insbesondere die Modellversuche *an künstlichen Fasern*, welche aus polyvalenten Fadenmolekülen bestehen und an welchen bei Änderung des elektrolytischen Ladungszustandes *reversible Kontraktionen und Dilatationen hervorgerufen werden können*. Eine wesentliche Feststellung wird darin bestehen, daß die von der künstlichen Faser pro Gramm Trockensubstanz entwickelte maximale Kraft der beim natürlichen Muskel beobachteten etwa gleich ist.

Die Aussage, wonach die Muskelkontraktion mit kinetischen Eigenschaften und mit der Zustandswahrscheinlichkeit hochpolymerer Moleküle in Zusammenhang zu bringen sei, geht, soweit uns bekannt ist, auf E. WÖHLISCH[3] zurück sowie auf hieran anschließende Arbeiten von K. H. MEYER[4]. Auf vorhandene Unterschiede betreffend die Vorstellungen, wie die kontraktive Kraft kinetisch erzeugt wird, soll hier nicht eingegangen werden[5].

Um die Modellversuche verständlich zu machen und zu begründen, bringen wir zunächst einige Aussagen betreffend die Gestalt hochpolymerer Fadenmoleküle in Erinnerung, und zwar zunächst für den einfachsten Fall, daß die Moleküle keine elektrischen Ladungen tragen; wir zeigen anschließend, wie wir die Gestalt solcher Moleküle, sofern sie elektrolytisch ionisierbare Gruppen, wie z.B. Carboxylgruppen, tragen, in empfindlicher Weise dadurch beeinflussen können, daß wir durch passende Zusätze eine elektrolytische Dissoziation und damit eine elektrische Aufladung der Fäden herbeiführen. Wir zeigen dann weiter, daß wir diese Formänderungen auf makroskopische Systeme übertragen können, indem wir die Fadenmoleküle in passender Weise zu räumlichen Netzwerken vereinigen, und wir werden sehen, daß solche makroskopische künstliche Gebilde auf kleinste Zusätze mit Kontraktionen und Dilatationen reagieren, welche der Muskelkontraktion in vieler Beziehung ähnlich sind.

2. *Gestalt nicht geladener Fadenmoleküle; Kautschukelastizität*

Wir erinnern daran, daß die Gestalt eines Moleküls, wie etwa der Polyacrylsäure:



in Lösung meistens nicht die eines gestreckten Fadens oder eines Stabes ist, sondern daß ein solcher Faden im allgemeinen die Gestalt eines sehr lockeren Knäuels besitzen wird[1]. Die unregelmäßige, sogenannte *statistische Knäuelgestalt* rührt davon her, daß die Valenzrichtungen der C–C-Bindungen, welche wir im betrachteten Beispiel durchlaufen, wenn wir der Kette entlanggehen, nicht alle in derselben Richtung liegen, sondern daß aufeinanderfolgende C–C-Bindungen miteinander einen Winkel von etwa 109° bilden und daß um diese Bindungen ein gewisser Grad von Drehbarkeit existiert. Wenn wir die Fortschreitungsrichtung vom ersten zum zweiten C-Atom der Kette etwa in die z-Richtung eines Koordinatensystems legen (Abb. 1), so nimmt die Unbestimmtheit darüber, an welchen *Orten* das dritte,

[1] Vortrag, gehalten vor der Naturforschenden Gesellschaft in Basel, am 25. Januar 1950.

[2] Physikalisch-Chemisches Institut der Universität Basel.

[3] E. WÖHLISCH, Verh. phys.-med. Ges. Würzburg N.F. *51*, 53 (1926).

[4] K.H.MEYER, G.v. SUSICH und E.VALKÓ, Kolloid-Z. *59*, 208 (1932).

[5] Vgl. z.B. W. KUHN und F. GRÜN, Kolloid-Z. *101*, 248 (1942), insbesondere S. 249 und 270, ferner die unter Note 3 und 4 zitierten Originalarbeiten, sowie z.B. E. WÖHLISCH, Helv. chim. acta *22*, 1358 (1939); E. WÖHLISCH und W. GRÜNING, Pflügers Arch. ges. Physiol. *246*, 469 (1942); und als Zusammenfassung: F. VERZÁR, *Theorie der Muskelkontraktion* (Basel, 1943).

[1] W. KUHN, Kolloid-Z. *68*, 2 (1934); vgl. auch eine Zusammenfassung in Exper. *1*, 6 (1945).

vierte usw. C-Atom zu finden ist und die Unbestimmtheit darüber, in welcher *Richtung* sich das nächstfolgende Kettenglied an die vorhandene Kette anschließen wird, rasch zu. Die Unbestimmtheit ist nach einer beschränkten Anzahl von Schritten, etwa nach Durchlaufung von s monomeren Resten, praktisch vollkommen. Die Größe s hängt vom Winkel, den aufeinanderfolgende, zur Kette gehörende Valenzen miteinander einschließen, außerdem vom Grade der freien Drehbarkeit, d.h. vom Vorhandensein von Vorzugsstellungen (z.B. energetische Bevorzugung von Cis- oder Transstellungen bei Kohlenstoffverbindungen), von der Raumbeanspruchung der Kettenglieder und unter Umständen auch etwas vom Lösungsmittel ab.

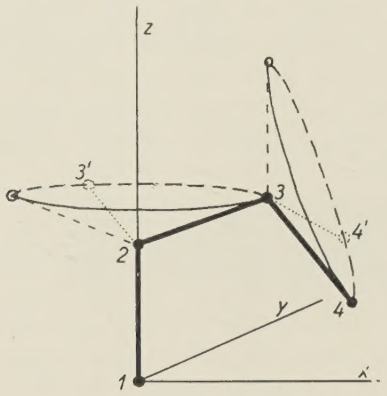


Abb. 1. Schrittweise Zunahme der Unbestimmtheit des Ortes, an dem sich die einzelnen Kettenglieder befinden, und der Fortschreitungsrichtung von einem Kettenglied zum nächsten beim Vorrücken entlang einer Kette.

Für die Beschreibung und statistische Auswertung der von den Molekülen in Lösung angenommenen Gestalt hat es sich als zweckmäßig erwiesen, einen aus s monomeren Resten bestehenden Abschnitt als *statistisches Fadenelement* zu bezeichnen und ein Fadenmolekül vom Polymerisationsgrad Z für alle die Gestalt betreffenden Betrachtungen durch ein Gebilde zu ersetzen, welches aus einer bestimmten Zahl N von statistischen Fadenelementen der Länge A besteht.

Es gilt selbstverständlich die Beziehung $N = Z/s$; außerdem kann s so gewählt werden, daß

$$N \cdot A = Z \cdot b = L \qquad (1)$$

wird[1], wobei b die in der Kettenrichtung gemessene Länge eines monomeren Restes, L die Länge des ohne Deformation von Valenzwinkeln gestreckten Fadens (die sogenannte hydrodynamische Länge des Fadens) bedeutet. Offenbar ist das Molgewicht M_A eines statistischen Fadenelementes gleich

$$M_A = s\, M_g, \qquad (2)$$

wenn M_g das Molgewicht des die Kette aufbauenden Monomeren bedeutet. Zur Veranschaulichung sind für einige Beispiele die ungefähren Zahlenwerte von s, M_g, M_A sowie der Länge A des statistischen Vorzugselementes in Tabelle 1 angegeben (siehe Tabelle).

Wenn nach dieser Beschreibung jedes Fadenmolekül aus N statistischen Fadenelementen der Länge A besteht, so können wir, um ein räumliches Modell zu erhalten, etwa so vorgehen: Wir legen den Anfangspunkt des Fadens an einen bestimmten Punkt und das erste statistische Fadenelement in eine bestimmte Richtung (Abb. 2). Die Fortschreitungsrichtung vom Endpunkte des ersten zum Endpunkte des zweiten statistischen Fadenelementes muß dann von der Orientierungsrichtung des ersten Fadenelementes unabhängig sein, indem ja die Haupteigenschaft des statistischen Fadenelementes die ist, daß die Orientierung eines herausgegriffenen Elementes von der des vorangehenden unabhängig sei.

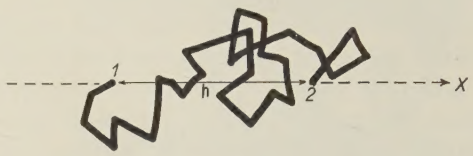


Abb. 2. Statistisch gestaltetes Molekül, dessen Anfangs- und Endpunkt sich auf der x-Achse befinden.

Nach H. KUHN[1] können wir eine solche Zufallsorientierung des zweiten und der folgenden statistischen Fadenelemente besonders einfach in der folgenden Weise erhalten: wir bringen an einem Punkte der Oberfläche einer Kugel eine Marke, beispielsweise mit gelber Farbe einen Punkt an. Wir werfen die Kugel in die Luft, lassen sie auf eine ebene Fläche fallen und halten sie dann plötzlich an. Die Richtung vom Kugelmittelpunkt nach dem an der Oberfläche befindlichen gelben Punkt gibt dann eine Richtung an, welche offenbar rein durch Zufall bestimmt ist. In diese Richtung legen wir das zweite statistische Fadenelement. Wir lassen die Kugel wieder rollen und halten sie wieder an. Der Vektor, welcher vom Kugelmittelpunkt nach der gelben Marke weist, gibt uns eine von der Orientierung des zweiten statistischen Fadenelementes unabhängige neue Richtung. In diese Richtung legen wir das dritte statistische Fadenelement usw.

Der Linienzug, den wir bei N-maliger Wiederholung dieses Verfahrens zur statistischen Festlegung der Fortschreitungsrichtungen erhalten, wird ein Bild ergeben, wie es etwa durch Abb. 2 dargestellt ist. Es gleicht in jeder Beziehung dem Bild, welches wir erhalten, wenn wir die BROWNsche Bewegung eines Kolloidteilchens beschreiben, indem wir beispielsweise alle 10 Sekunden den Ort des Teilchens festhalten und die nacheinander erhaltenen Punkte durch Geraden verbinden. Auch hier wird der, etwa in 10 Sekunden, zurückgelegte Weg einen bestimmten durchschnittlichen Betrag A besitzen, und es werden die Richtungen der aufeinanderfolgenden Bahnstücke unabhängig voneinander sein.

Genau so wie wir Angaben über die mittlere Verschiebung machen können, welche das Kolloidteilchen in einer bestimmten Zeit erfährt, können wir auch für

[1] W. KUHN und H. KUHN, Helv. chim. acta *26*, 1394 (1943).

[1] H. KUHN, Habilitationsschrift (Basel, 1946).

Tabelle

Länge A und Molgewicht M_A des statistischen Fadenelementes sowie Werte von s und M_g für einige hochpolymere Stoffe

	Lösungsmittel	s	M_g	M_A	A
Cellulose	Kupfer(II)-tetraminhydroxyd	9,7	163	1600	$50 \cdot 10^{-8}$ cm
Methylcellulose	Wasser	25	194	4300	$130 \cdot 10^{-8}$ cm
Paraffin	Benzol	12	14	170	$16 \cdot 10^{-8}$ cm
Polyacrylsäure	Wasser	10	84	840	$25 \cdot 10^{-8}$ cm
Polystyrol	Toluol	14	104	1400	$35 \cdot 10^{-8}$ cm
Polyvinylchlorid	Dicxan	9	62,5	560	$22 \cdot 10^{-8}$ cm

das aus N statistischen Fadenelementen zusammengesetzte Molekül Angaben über den mittleren Abstand der Fadenenden machen, oder über die Häufigkeit, mit welcher verschiedene Werte des Abstands h anzutreffen sind, wenn wir den beschriebenen Versuch oft wiederholen bzw. wenn wir eine Gesamtheit von sehr vielen Fadenmolekülen betrachten. Diese Aussagen sind besonders einfach und für das Folgende genügend, wenn wir vorschreiben, daß Fadenanfangs- und -endpunkt auf einer bestimmten räumlich festgelegten Achse, etwa auf der x-Achse (Abb. 2) festgelegt seien. Die Wahrscheinlichkeit $W(h)\,dh$ dafür, daß der Abstand des Fadenanfangspunktes vom Fadenendpunkt einen zwischen h und $h + dh$ liegenden Wert besitzt, ist dann durch Abb. 3 gegeben. Die Verteilungsfunktion $W(h)$

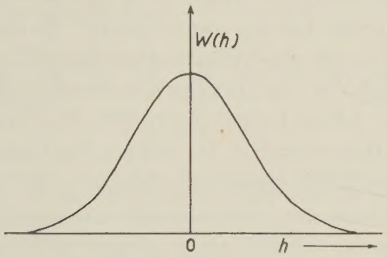


Abb. 3. Häufigkeitsverteilung $W(h)$ für eine Gesamtheit von Molekülen gemäß Abb. 2. Abszisse: Endenabstand h; Ordinate: Häufigkeit, mit der ein Abstand h angetroffen wird.

hat ein Maximum bei $h = 0$; jede von dieser Verteilung abweichende Verteilung würde von selbst, auf Grund der Wärmebewegung, in die Verteilung Abb. 3 übergehen. Insbesondere würde ein Molekül oder eine Schar

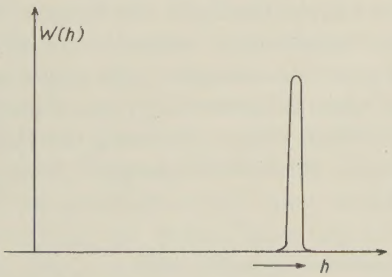


Abb. 3a. Künstlich herbeigeführte Verteilung: alle Moleküle einer Gesamtheit besitzen nahezu denselben Wert h. Eine solche Verteilung würde, wenn die Brownsche Bewegung der statistischen Fadenelemente freigegeben wird, freiwillig bzw. unter Arbeitsleistung in die Verteilung Abb. 3 übergehen.

von Molekülen, bei denen wir künstlich den Wert des Abstandes h zwischen Anfangs- und Endpunkt groß gemacht haben (Verteilung Abb. 3a), aus Wahrscheinlichkeitsgründen bestrebt sein, den Abstand h zu verringern. Da jeder freiwillig verlaufende Vorgang zu einer Arbeitsleistung benützt werden kann, können

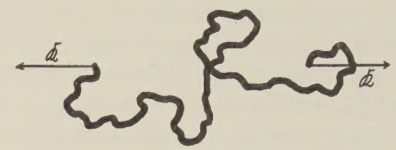


Abb. 4. Um die Fadenenden des Systems Abb. 2 auf der x-Achse in einem Abstande h festzuhalten, muß auf die Fadenenden je eine Kraft $\mathfrak{K}$ von dem in Gleichung (3) angegebenen Betrage in der Pfeilrichtung ausgeübt werden.

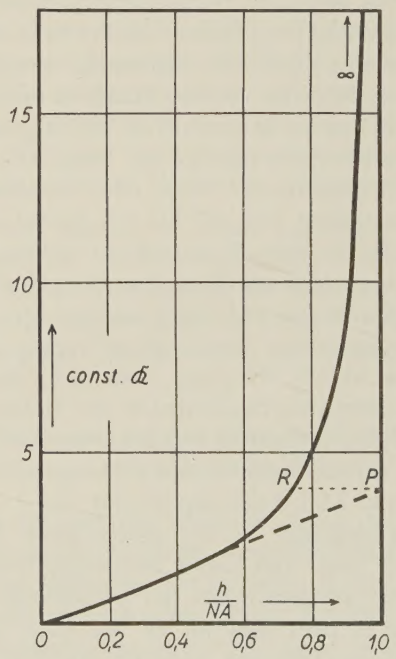


Abb. 5. Abhängigkeit der Rückstellkraft $\mathfrak{K}$ (Ordinate) in Abhängigkeit von $h/N\,A$. h ist der Abstand der Fadenenden, NA der Abstand, den die Enden im völlig gestreckten Faden besitzen würden.

wir auch den Übergang der Verteilung Abb. 3a in Abb. 3 zu einer Arbeitsleistung verwenden; oder anders ausgedrückt: Um die Zusammenziehung eines

Molekülfadens, dessen Enden im Abstand h voneinander festgehalten werden, zu verhindern, müssen wir auf die Fadenenden eine Kraft $\mathfrak{K}$ gemäß Abb. 4 wirken lassen. Diese Kraft $\mathfrak{K}$ müßte, wenn h bedeutend kleiner als NA ist, gleich sein

$$\mathfrak{K} = 3\,kT\,\frac{h}{NA^2}. \qquad (3)$$

Hierbei ist k die Boltzmannsche Konstante, T die absolute Temperatur. Gleichung (3) gilt recht genau, solange h kleiner als etwa $0{,}7 \cdot NA$ ist; für größere Werte von h, d.h. dann, wenn h auf 20 oder 10% genau gleich der Länge des völlig gestreckten Fadens wird, steigt die Kraft $\mathfrak{K}$ gegenüber dem durch (3) gegebenen Wert stark an (Abb. 5).

Handelt es sich um ein System, in welchem sehr viele Fäden, gegebenenfalls auch Fadenstücke, welche zu einem räumlichen Netzwerk vereinigt sind, vorliegen, so wirkt die Kraft (3) bzw. die Kraft gemäß Abb. 5 auf die Enden jedes Einzelfadens oder sinngemäß auf die Enden eines jeden Netzbogens des räumlichen Netzwerkes. Ein Netzbogen ist dabei ein zwischen zwei Verknüpfungspunkten des räumlichen Netzes liegendes Fadenstück.

Bei einem solchen Gebilde wird es sich nur schwierig erreichen lassen, daß bei allen Netzbogen gleichzeitig, beispielsweise ein Wert $h = 0{,}9\,NA$, verwirklicht wird. Infolge von Unregelmäßigkeiten wird vielmehr bei starkem Dehnen der Fall eintreten, daß einzelne Netzbögen schon zerrissen werden, während andere noch nicht vollständig ausgestreckt sind. Um in einem solchen Falle eine praktische Schätzung der pro Einzelfaden zu erreichenden Rückstellkraft zu erhalten, nehmen wir an, daß das Maximum der zulässigen Dehnung des Versuchskörpers erreicht ist, wenn h/NA für die im System enthaltenen Fäden oder Netzbögen einen Durchschnittswert von 0,7 bis 0,8 besitzt (Punkt R von Abb. 5). Bei wesentlich stärkerer Drehung des Versuchskörpers würde mit einem Zerreißen einer größeren Zahl von Netzbögen und damit bald mit dem Zerreißen des Versuchskörpers überhaupt zu rechnen sein. An Hand von Abb. 5 überzeugt man sich, daß die bei dieser Annahme durchschnittlich pro Netzbogen auftretende Rückstellkraft $\mathfrak{K}$ maximal etwa den Wert besitzt, den wir erhalten, wenn wir den geradlinigen Teil der Kurve in Abb. 5 bis zum Punkte $h/NA = 1$ extrapolieren (Endpunkt P der gestrichelten Kurve in Abb. 5). Es heißt dies (unter Benützung von Gl. (3)), daß wir die mittlere Kraft pro Einzelfaden oder pro Netzbogen in dem nahe an die zulässige Grenze gedehnten Versuchskörper dadurch erhalten, daß wir einen Wert $h = NA$ in Gl. (3) einsetzen. Wir erhalten dann

$$\mathfrak{K}_{max} = \frac{3\,kT}{A}. \qquad (3a)$$

Wir werden diese Formel später zur Abschätzung der maximal von einem Muskel oder Muskelmodell entwickelten Rückstellkraft benützen.

Wir bemerken dazu, daß theoretisch wesentlich größere Rückstellkräfte erzielt werden könnten, jedoch nur bei sehr vollkommen geordneten Systemen, d.h. bei Systemen, bei denen h/NA für *alle* Netzbogen einen recht genau gleichen, in der Nähe von eins liegenden Wert besitzt; bei solchen Systemen würde aber die gegenüber (3a) vergrößerte Kraft bei der praktischen Arbeitsleistung, d.h. bei Verkürzung von h, *rasch* ungefähr auf den Wert (3a) absinken, um erst nachher bei weiterer Verkürzung von h relativ langsamer abzusinken.

Die Beziehung (3) bzw. die darüber hinaus verallgemeinerte und in Abb. 5 dargestellte Beziehung zwischen Rückstellkraft und Abstand h der Enden eines Fadens (oder eines Netzbogens) ist die Grundlage der Theorie der Kautschukelastizität[1]; sie kann als durch Erfahrung quantitativ bestätigt angesehen werden[2]. Es ist auf Grund des Nachstehenden wahrscheinlich, daß sie auch eine der Grundlagen für die Deutung der Muskelkontraktion ist.

3. *Entknäuelung bei Aufladung der Molekülfäden durch elektrolytische Dissoziation*

Wir können nun, beispielsweise an Lösungen von Polyacrylsäure in Wasser, zeigen, daß *eine sehr wesentliche* Gestaltänderung der statistisch geknäuelten Fadenmoleküle in Lösung dadurch herbeigeführt werden kann, daß ein Molekül undissoziierter Polyacrylsäure in sehr verdünnter Lösung durch Zusatz von Alkali in ein polyvalentes Ion verwandelt wird[3]. In der sehr verdünnten Lösung des Alkalisalzes der Polyacrylsäure befinden sich die das polyvalente Säure-Anion neutralisierenden Alkali-Ionen in großer Entfernung vom geladenen Molekülfaden. Da elektrische Ladungen gleichen Vorzeichens einander abstoßen, so stoßen die geladenen Teile des polyvalenten Anions einander ab; für eine grobe Abschätzung könnte man annehmen, daß die Hälfte der auf dem polyvalenten Anion befindlichen Ladungen am einen, die andere Hälfte am andern Fadenende befestigt sei; man sieht ein, daß sich in solchem Falle die Fadenenden gegenseitig abstoßen; es muß je nach der Größe der auf dem Faden befindlichen Ladung eine teilweise Entknäuelung, eine Vergrößerung des Abstandes h eintreten. Die Beobachtungen und die Berechnungen zeigen übereinstimmend, daß es im Falle verdünnter Lösungen von Polyacrylsäure oder Polymethacrylsäure nicht einmal notwendig ist, alle auf dem Faden vorhandenen Carboxylgruppen durch Zusatz von Alkali in Carboxylatgruppen umzuwandeln, um eine praktisch völlige Streckung der Molekülfäden herbeizuführen. Bei einer wässerigen Lösung von Polymethacrylsäure vom Polymerisationsgrad $Z = 1000$

[1] W. Kuhn, Kolloid-Z. *76*, 258 (1936).

[2] Vgl. insbesondere P. J. Flory, N. Rabjohn und M. C. Shaffer, J. Polymer Sci. *4*, 225 (1949).

[3] W. Kuhn, O. Künzle und A. Katchalski, Bull. Soc. Chim. Belg. *57*, 421 (1948); Helv. chim. acta *31*, 1994 (1948). – J. J. Hermans und J. Th. G. Overbeek, Bull. Soc. Chim. Belg. *57*, 154 (1948). – O. Künzle, Rec. Trav. Chim. Pays-Bas *68*, 699 (1949).

genügt es zum Beispiel, die Hälfte der vorhandenen COOH-Gruppen mit Alkali zu neutralisieren, um eine völlige Streckung des Fadens zu veranlassen.

Die Gestaltänderung kann in diesem Falle in empfindlicher Weise an Hand der Viskosität der Lösung verfolgt werden. Wenn wir zwei Teilchen betrachten, welche je aus einem Faden der Gesamtlänge L bestehen, wobei aber das eine Teilchen völlig gestreckt, das andere zu einem mehr oder weniger losen Knäuel zusammengedrückt ist, so kann man schon qualitativ einsehen, daß diese Teilchen sich hydrodynamisch verschieden verhalten müssen, indem das gestreckte Teilchen einen großen, das geknäuelte Teilchen einen kleineren hydrodynamischen Widerstand zeigen wird.

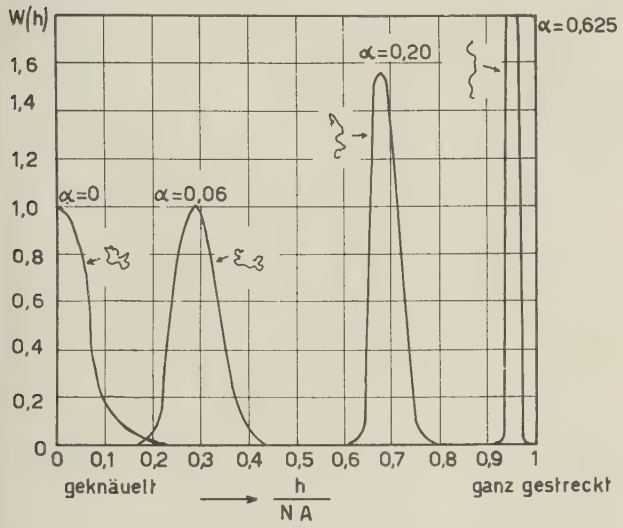


Abb. 6. Streckung des Molekülfadens bei zunehmendem Ionisationsgrad α. $W(h)$ als Ordinate gegen h/NA als Abszisse für verschiedene Ionisationsgrade α des Molekülfadens (berechnet für Polymethacrylsäure vom Polymerisationsgrade $Z = 400$; vgl. Helv. chim. acta *31*, 1994 (1948)).

Um den Einfluß eines gelösten Stoffes auf die Viskosität anzugeben, stellt man die sogenannte *spezifische Viskosität* $(\eta - \eta_0)/\eta_0$ fest und teilt diese Größe durch die Konzentration c der Lösung (c wird beispielsweise ausgedrückt in Grundmol des gelösten Hochpolymeren pro Liter Lösung). η ist die Viskosität der Lösung, η_0 die des Lösungsmittels. Die Maßzahl $[\eta] = (\eta - \eta_0)/(\eta_0 c)$ ist also die am Lösungsmittel herbeigeführte relative Viskositätsänderung, wenn die gelöste hochpolymere Verbindung in einer Konzentration von einem Grundmol pro Liter zugegen ist. In sehr verdünnter Lösung nicht geladener Fadenmoleküle strebt $[\eta]$ einem Grenzwert zu.

Die Streckung der Molekülfäden als Folge der Zugabe von Alkali zu einer Lösung von Polyacrylsäure in Wasser macht sich nun in einer Steigerung der Maßzahl $[\eta]$ geltend. Es handelt sich um eine Steigerung um einen Faktor 300 oder 1000, je nach dem Polymerisationsgrade, wenn die Hälfte der auf dem Faden befindlichen COOH-Gruppen durch Alkali neutralisiert werden. Der Effekt der Erhöhung von $[\eta]$ ist am größten, wenn die Lösung äußerst verdünnt ist; er ist also durch die *Gestaltänderungen des Einzelfadens*, nicht durch Assoziationserscheinungen, zu deuten.

Die durch Zugabe von Alkali zur äußerst verdünnten Lösung der Polyacrylsäure bewirkte Streckung der Molekülfäden kann durch eine theoretische Berechnung quantitativ verstanden werden. Das Ergebnis ist in Abb. 6 festgehalten. Für das ungeladene Molekül (Ionisationsgrad $\alpha = 0$), dessen Anfangs- und Endpunkt sich auf der x-Achse eines Koordinatensystems frei bewegen kann, war die Verteilungsfunktion $W(h)$ durch Abb. 3 gegeben, oder wenn wir die Funktion nur im Bereiche der positiven Werte von h darstellen, durch die mit $\alpha = 0$ bezeichnete Kurve von Abb. 6. Bei einem Ionisationsgrade von 6% ($\alpha = 0{,}06$) ist $W(h)$ für eine wässerige Lösung von Polymethacrylsäure vom Polymerisationsgrade $Z = 400$ durch eine zweite, entsprechend bezeichnete Kurve von Abb. 6 gegeben; Fäden mit $h = 0$ kommen hier praktisch genommen nicht mehr vor; $W(h)$ hat ein Maximum für h/NA etwa gleich 0,28; d.h. hier beträgt der wahrscheinlichste Abstand zwischen den Fadenenden etwa 28% vom Abstand, den die Enden im völlig gestreckten Faden besitzen würden. Bei einem Ionisationsgrade von 20% liegt das Maximum der Verteilungsfunktion bei etwa 68% und bei $\alpha = 0{,}625$ bei etwa 95% des Endenabstandes im gestreckten Faden. Aus der Figur ersieht man auch, wie die Verteilungsfunktion bei großen Werten von α schmal wird. Der Endenabstand bei den durch elektrostatische Aufladung teilweise entknäuelten Fäden ist bei allen individuellen Fäden nahezu derselbe, während beim ungeladenen Faden relativ große Streuungen im Werte von h vorkamen.

Die durch Zusatz von Alkali zur freien Polyacrylsäure bewirkte Viskositätserhöhung läßt sich durch Zusatz von Säure rückgängig machen. Der Abstand h zwischen den Fadenenden ist somit in empfindlicher und *umkehrbarer* Weise vom p_H der Lösung abhängig.

4. *Übertragung der Änderung der Molekülgestalt auf makroskopische Systeme*

Es ist einleuchtend, daß die durch Änderung des Ionisationsgrades bewirkte Vergrößerung und Verringerung des Abstandes h in mancher Hinsicht der Muskelkontraktion analog ist. Es hat sich gezeigt, daß es sich möglicherweise um mehr als eine Analogie handelt, indem sich die an gelösten polyvalenten Fadenmolekülen gefundene reversible Kontraktion und Dehnung auf makroskopische Systeme übertragen und zur Herstellung mechanischer Energie aus chemischer Energie verwenden läßt. Man erhält solche makroskopischen Systeme, indem Fadenmoleküle, welche ionisierbare Gruppen tragen, zu einem räumlichen Netzwerk ver-

einigt werden. Für die Erzeugung solcher Netzwerke sind mit Erfolg verschiedene Wege beschritten worden[1].

Ein isotropes räumliches Netzwerk erhält man beispielsweise dadurch, daß man Methacrylsäure zusammen mit Divinylbenzol polymerisiert[2]. In andern Versuchen wird ein bis zu einem gewissen Grade orientiertes, im wesentlichen aus Polyacrylsäure bestehendes Netzwerk dadurch erhalten, daß man eine Lösung, welche 3% Polyacrylsäure, 0,3% Glyzerin und 0,03% H_2SO_4 enthält, auf eine paraffinierte Glasplatte ausgießt und die beim Eintrocknen entstehenden Folien unter Zugbelastung (z.B. 10 kg/cm²) während einiger Stunden auf 100°C erwärmt[3]. Im erstgenannten Falle werden die Fäden von Polymethacrylsäure durch Einbau von Divinylbenzol, im zweiten Falle die von Polyacrylsäure durch teilweise Veresterung mit den COH-Gruppen des Glyzerins zu räumlichen Netzwerken «vulkanisiert». Folien mit ähnlichen Eigenschaften, welche starke Volumen- bzw. Längenänderungen geben, aber nur geringe Reißfestigkeit besitzen, kann man auch durch Veresterung von Polyvinylalkohol mit Schwefelsäure erhalten.

Es hat sich gezeigt, daß man Fäden *mit besonders guten Festigkeitseigenschaften* erhält, wenn man die Vernetzung der Polyacrylsäure anstatt mit Glyzerin mit einem hochpolymeren Alkohol, insbesondere mit Polyvinylalkohol vornimmt und wenn man dabei den Polyvinylalkohol in erheblichem Überschuß anwendet[4, 5]. Ähnlich wie bei den mit Glyzerin vulkanisierten Polyacrylsäurefäden erhält man die mit Polyvinylalkohol vulkanisierten Fäden, indem man durch Eintrocknen einer wässerigen Lösung Folien, die z.B. aus 20% Polyacrylsäure und 80% Polyvinylalkohol bestehen, herstellt und aus diesen Folien geschnittene Streifen unter Belastung, beispielsweise mit 500 bis 1000 kg/cm², während 30 Sekunden bei 120°C vulkanisiert.

Die Folien, welche vor dem Vulkanisieren in Wasser völlig löslich sind, sind nach dem Erhitzen in Wasser quellbar, aber nicht mehr löslich. Als interessante Feststellung sei bemerkt, daß Folien, welche ohne Belastung während derselben Zeit auf dieselbe Temperatur erwärmt wurden, wasserlöslich bleiben, daß also der Vulkanisationsprozeß bei gleichzeitiger Zugbelastung der Folien etwa 100- bis 1000mal rascher als ohne Zugbelastung erfolgt. Es ist damit, soviel uns bekannt ist, erstmals eine starke Beeinflussung der Geschwindigkeit einer chemischen Reaktion durch mechanische Beanspruchung der in Reaktion tretenden Moleküle festgestellt. Es ist möglich, daß bei der durch mechanischen Zug bewirkten Reaktionsbeschleunigung im System Polyvinylalkohol-Polyacrylsäure die Tatsache eine Rolle spielt, daß die Periode, in der die OH-Gruppen im Alkohol in der gestreckten Kette aufeinanderfolgen, dieselbe ist wie die Periode, in der die COOH-Gruppen in der gestreckten Säure aufeinanderfolgen. Eine Reaktionsbeschleunigung durch Zug ist aber auch im System Polyacrylsäure-Glyzerin beobachtet worden. Es ist daher möglich, daß ein Teil der für die Reaktion benötigten Aktivierungsenergie durch die bei der mechanischen Dehnung erfolgende Deformation von Atomabständen auf das Molekül übertragen wird.

Die Folien sind zu Beginn der Vulkanisation (bei 120°C) reversibel kautschukelastisch. Sie erstarren beim Abkühlen auf Zimmertemperatur und sind, bei Zimmertemperatur, stark doppelbrechend; beim Einbringen in Wasser findet eine starke Quellung quer zur Fadenachse und gleichzeitig eine Kontraktion (um etwa 50%) in der Längsrichtung statt; eine in der beschriebenen Weise hergestellte Polyacrylsäure-Polyvinylalkohol-Folie besitzt beispielsweise vor der Vulkanisation (ungedehnt) eine Länge von 40 mm, nach dem Streck-Vulkanisieren eine Länge von 220 mm, nach dem Einbringen in destilliertes Wasser eine Länge von 110 mm. Die Doppelbrechung geht beim Quellen in Wasser zum größten Teil, jedoch nicht völlig verloren.

b) *Dehnung und Kontraktion bei p_H-Änderung der Einbettungsflüssigkeit*

Bei einer p_H-Änderung der Einbettungsflüssigkeit zeigen diese Folien eine starke reversible Dehnung und Kontraktion, und zwar bei Zugabe von Alkali eine Dehnung (entsprechend der an der Lösung bei Zugabe von Alkali beobachteten Entknäuelung des Einzelfadens) und eine Kontraktion bei Zugabe von Säure (entsprechend der Verminderung des h-Wertes des Einzelfadens in verdünnter Lösung bei Zugabe von Säure zum Alkalisalz). Die Verlängerung des Fadens bei Zugabe von Alkali und die Kontraktion bei Zugabe von Säure ist dabei völlig reversibel und kann beliebig oft wiederholt werden. Für die beschriebenen Polyacrylsäure-Polyvinylalkoholfäden liegt völlige Kontraktion ungefähr bei $p_H = 4$, extreme Streckung ungefähr bei $p_H = 8$ vor. Der Längenzuwachs beim Übergang vom kontrahierten zum gedehnten Zustande hängt stark von der Herstellungsweise der Folien ab. Bei den mit Glyzerin vernetzten Polyacrylsäurefolien, sowie bei den Kopolymerisaten von Methacrylsäure mit Divinylbenzol beträgt der Längezuwachs bis 300% (Dehnung auf das Dreifache beim Übergang von $p_H = 4$ zu $p_H = 8$); man stellt aber fest, daß diese Fäden oder Folien mechanisch wenig stabil und zur Umwandlung von chemischer in mechanische Energie weniger geeignet sind als die Polyacrylsäure-Polyvinylalkoholfäden. Es ist möglich, daß die besondere mechanische Stabilität dieser Fäden mit einer beim Streckvulkanisieren erfolgenden Mizellbildung oder mit einer teilweisen

[1] W. Kuhn, Exper. *5*, 318 (1949). – A. Katchalski, Exper. *5*, 319 (1949). – W. Kuhn, B. Hargitay, A. Katchalski und H. Eisenberg, Nature *165*, 515 (1950). – J. W. Breitenbach und H. Karlinger, Mh. Chem. *80*, 311 (1949).

[2] A. Katchalski, Exper. *5*, 319 (1949). – J. W. Breitenbach und H. Karlinger, Mh. Chem. *80*, 311 (1949).

[3] W. Kuhn, Exper. *5*, 318 (1949).

[4] W. Kuhn, B. Hargitay, A. Katchalski und H. Eisenberg, Nature *165*, 515 (1950).

[5] Zum Teil unveröffentlicht.

Kristallisation zusammenhängt, die sich durch eine beim Quellen der vulkanisierten Folie in Wasser eintretende Trübung zu erkennen gibt. So ist auch im Falle des Kautschuks bekannt, daß die Reißfestigkeit dann, wenn beim Dehnen eine teilweise Kristallisation eintreten kann, wesentlich größer ist als dann, wenn eine Kristallisation, z.B. infolge Quellung, nicht eintreten kann[1].

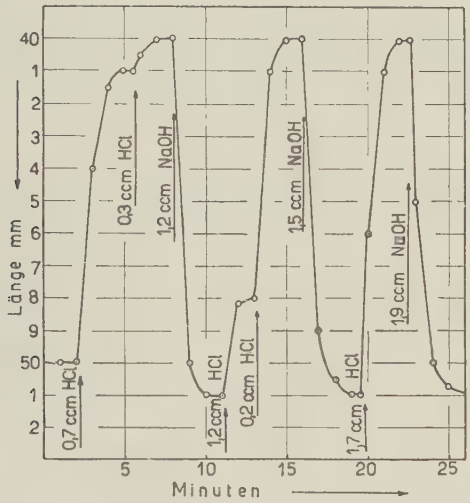


Abb. 7. Längenänderung eines aus 80% Polyvinylalkohol und 20% Polyacrylsäure bestehenden, durch Streckvulkanisation wasserunlöslich gemachten Fadens bei Zugabe von Säure und Lauge. Ordinate: Länge des Fadens; Abszisse: Zeit. Die Zeitpunkte, in welchen Säure bzw. Alkali zugesetzt wurde, sind durch Pfeile kenntlich gemacht. Trockengewicht des Fadens: 6 mg; Belastung des Fadens konstant 360 mg; Einbettungsmedium 10 cm³ 0,01 *n* NaCl-Lösung in Wasser. Zugefügte Lösungen: je 0,02 *n* HCl bzw. NaOH.

Im übrigen stellt man fest, daß bei allen, also auch bei den unter Zug vulkanisierten Fäden, mit der auf Zugabe von Säure und Lauge erfolgenden Längenänderung eine ungefähr ebenso große Änderung der Querdimension der Fäden verknüpft ist. Es wird also die von der Streckvulkanisation herrührende Anisotropie bei der mit der p_H-Änderung des Einbettungsmediums einhergehenden makroskopischen Änderung der Folie höchstens in kleinem Ausmaße bemerkbar.

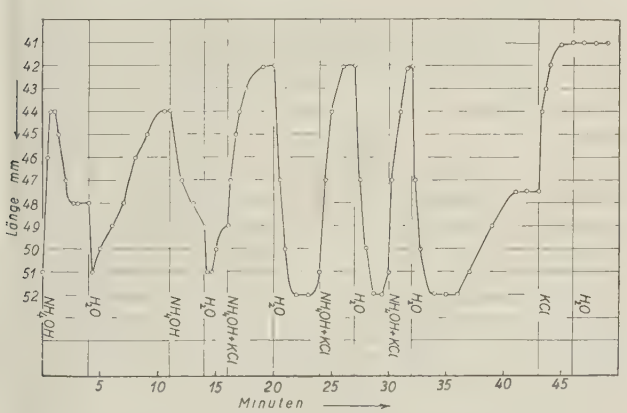


Abb. 8. Längenänderung eines aus Myosin bestehenden Fadens bei Entfernung und Zugabe von NH_4OH (nach GERENDÁS und SZENT-GYÖRGYI (l.c.).

[1] G. GEE, J. Polymer Sci. *2*, 451 (1947).

Wir haben bereits erwähnt, daß die Längenänderungen, besonders bei den Polyvinylalkohol-Polyacrylsäurefäden, nicht nur beim unbelasteten, sondern auch beim belasteten Faden herbeigeführt werden können. Abb. 7 zeigt das Verhalten eines Fadens von 6 mg Trockengewicht, der mit 360 mg belastet ist und der sich in einer 0,01 *n* NaCl-Lösung befindet; die Länge des Fadens ist in alkalischer Lösung etwa 50 bis 51 mm und verringert sich bei Zusatz von etwa 1 cm³ 0,02 *n* HCl auf etwa 40 mm, wobei die Kontraktion und Verlängerung des Fadens, wie aus der Figur ersichtlich ist, umkehrbar ist und nach Belieben wiederholt werden kann.

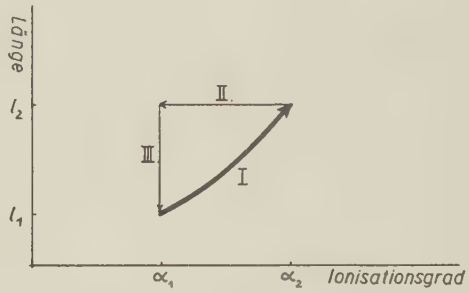


Abb. 9. Schematischer Kreisprozeß zur Verwandlung von chemischer in mechanische Energie. Beim Durchlaufen im Sinne der Pfeilrichtung erfolgt in Kurventeil I: Ausdehnung des unbelasteten Fadens von l_1 auf l_2, bei Zunahme des Ionisationsgrades von α_1 auf α_2. II: Rückkehr vom Ionisationsgrade α_2 nach α_1 bei Konstanthaltung der Fadenlänge l_2. III: Kontraktion von l_2 auf l_1 unter Arbeitsleistung bei Konstanthaltung des Ionisationsgrades α_1.

Es ist interessant festzustellen, daß diese Längenänderungen ganz analog und quantitativ etwa ebenso groß sind wie die Dehnungen und Kontraktionen, welche von GERENDÁS und SZENT-GYÖRGYI[1] an Myosinfäden beobachtet wurden (Abb. 8)[2].

5. *Verwandlung von chemischer Energie in mechanische Energie durch isothermen Kreisprozeß*

Eine eigentliche Arbeitsleistung liegt nach Zurücklegung eines Zyklus der Zugabe von Säure und Lauge bei dem an Hand von Abb. 7 beschriebenen Versuch nicht vor, da sowohl die Kontraktion als auch die nachfolgende Dehnung bei derselben Belastung des Fadens vor sich geht, also in der Weise, daß sich das Gewicht nach Zurücklegung des Zyklus am selben Orte wie zu Beginn des Versuchs befindet. Wie wir an Hand von Abb. 9 zeigen wollen, ist es aber nicht schwierig, durch eine kleine Abänderung der Versuchsbedingungen mit Hilfe der beschriebenen kontraktilen Fäden eine unmittelbare Umwandlung von chemischer in mechanische Energie zu verwirklichen.

[1] M. GERENDÁS und A. SZENT-GYÖRGYI, Enzymologia *9*, 117 (1940).

[2] Bei einem Teil dieser Versuche wird außer Alkali auch Neutralsalz zugesetzt bzw. entzogen, was zusätzliche Effekte zur Folge hat, die beim Polyacrylsäuremodell in ähnlicher Weise ebenfalls erzeugt werden können.

Es sei bei einem Ionisationsgrade α_1 die Länge des unbelasteten Fadens gleich l_1, beim Ionisationsgrade α_2 gleich l_2. Der Übergang von l_1 zu l_2 entspricht der des nicht belasteten Fadens; wir können uns, worauf wir ausdrücklich aufmerksam machen, bei Zugabe und Entzug von Alkali beliebig oft und in reversibler Weise auf dem in Abb. 9 stark ausgezogenen Kurventeil I hin und her bewegen. Wir können jetzt (Kurventeil II der Abb. 9) die Fadenenden, welche beim Ionisationsgrade α_2 freiwillig den Abstand l_2 angenommen haben, in diesem letztern Abstande festhalten, durch Entzug von Alkali oder Zugabe von Säure aber zum Ionisationsgrade α_1 zurückkehren. Da die Länge l_2 hierbei festgehalten wird, tritt eine mechanische Arbeitsleistung zunächst nicht auf, wohl aber eine Rückstellkraft, da der Faden nach Durchlaufen des Kurventeiles II beim Ionisationsgrade α_1 die Länge l_2 anstatt l_1 besitzt. Der Faden wird also in einem anschließenden Vorgang III bei konstanten Werten von α_1 freiwillig, und wenn wir bei der Änderung der Länge l schrittweise die jeweils zulässige Belastung anwenden, reversibel und unter Arbeitsleistung in den Ausgangszustand l_1 zurückkehren.

Der aus den Kurventeilen I, II und III bestehende Gesamtvorgang stellt offenbar einen Kreisprozeß dar, der in beliebiger Richtung durchlaufen werden kann und bei welchem, wenn er in der eben beschriebenen Richtung durchlaufen wird, mechanische Energie nach außen abgegeben wird. Da die Summe der freien Energien beim Kreisprozeß gleich Null ist, müssen die Konzentrationen, bei welchen in den Kurventeilen I und II Alkali zugefügt oder entzogen wird, um die Änderung des Dissoziationsgrades von α_1 auf α_2 oder umgekehrt herbeizuführen, verschieden sein, so daß bei dem beschriebenen Kreisprozeß letzten Endes eine Umwandlung von chemischer Energie (Konzentrationsarbeit) in mechanische Energie vorliegt.

6. *Vergleich der maximal erzielbaren Rückstellkraft beim Modellversuch und beim natürlichen Muskel*

Bei dem an Hand von Abb. 9 beschriebenen Versuch wurde am nicht belasteten Faden eine Längenänderung von l_1 auf l_2 durch Zusatz von Alkali herbeigeführt; anschließend wurde der Ionisationsgrad von α_2 bei konstant gehaltenem l_2 auf α_1 zurückgeführt; im Zustande l_2, α_1 ist eine Kontraktionstendenz, eine Rückstellkraft am Faden vorhanden, welche mit der am gereizten Muskel auftretenden Rückstellkraft verglichen werden kann. Selbstverständlich ist die Rückstellkraft beim Vorgang III, wenn wir bei konstantem α_1 von l_2 nach l_1 zurückkehren, im Anfang, d.h. dann, wenn l noch nahezu gleich l_2 ist, am größten. Ein solches Verhalten ist auch beim gereizten Muskel festzustellen: die am gereizten Muskel festzustellende Rückstellkraft ist beim nahezu völlig gestreckten Muskel am größten und in der Endphase, beim praktisch kontrahierten Muskel, am geringsten. Wir vergleichen jetzt die im Zustandspunkte l_2, α_1 der Abb. 9 an den Polyacrylsäure-Polyvinylalkoholfäden auftretende Rückstellkraft mit der am nahezu völlig gestreckten gereizten Muskel auftretenden Kraft.

Ein Polyacrylsäure-Polyvinylalkoholfaden, der pro Zentimeter Fadenlänge 0,2 mg Polyacrylsäure als aktive kontraktile Substanz enthält und der durch Zusatz von Alkali unbelastet auf maximale Länge gebracht wurde, vermag bei Zusatz von Säure ein Gewicht von 3–14 g von der Unterlage emporzuheben, also ein Gewicht, welches 15000- bis 70000mal größer ist als das Gewicht der pro Zentimeter des Fadens enthaltenen kontraktilen Substanz.

Die Größe des Gewichtes, welches der nahezu gestreckte Muskel von der Unterlage emporzuheben vermag, ist beim Froschmuskel etwa 3 kg/cm², beim menschlichen Muskel etwa 3–12 kg/cm². Da der Muskel etwa zu 80% aus Wasser besteht, ist die in einem Muskel vom Querschnitt 1 cm² und einer Länge von 1 cm enthaltene Trockensubstanz 0,2 g, der Gehalt an kontraktiler Substanz etwas kleiner, aber ebenfalls von der Größenordnung 0,2 g. Die vorhin gemachten Angaben besagen somit, daß der Froschmuskel etwa das 15000fache, der menschliche Muskel etwa das 15000- bis 60000fache des Gewichtes der pro Zentimeter der Muskelfaser vorhandenen kontraktilen Substanz emporzuheben vermag. Das ist nahezu dieselbe Zahl, die wir für die maximal von den Polyacrylsäure-Polyvinylalkoholfäden beobachtete Kraft erhalten haben. Auf die genaue zahlenmäßige Übereinstimmung möchten wir keinen, auf die ungefähre Übereinstimmung um so größeren Wert legen.

Auf Grund der in § 2 entwickelten Vorstellungen rührt die Rückstellkraft im Zustandspunkte l_2, α_1 der Abb. 9 davon her, daß die im Modellkörper vorhandenen Fäden oder Netzbogen gestreckt, aber nicht mehr elektrisch geladen, nicht mehr ionisiert sind, so daß sie aus statistischen Gründen aus dem gestreckten in den geknäuelten Zustand zurückzukehren bestrebt sind. Es ist von Interesse, die auftretende Rückstellkraft auch unter diesem theoretisch-modellmäßigen Gesichtspunkt abzuschätzen. Wir haben bereits gezeigt, daß wir für eine grobe Abschätzung für die am einzelnen Faden oder Netzbogen auftretende Rückstellkraft die Beziehung (3) benützen und bis zu Werten $h = NA$ (Gleichung (3a)), d.h. bis zu praktisch völliger Streckung des Fadens, anwenden dürfen (Punkt P von Fig. 5). Auf Grund von (3) ist die freie Energie eines aus N statistischen Fadenelementen der Länge A bestehenden Fadens oder Netzbogens, dessen Enden voneinander den Abstand h besitzen (gleich der Arbeit, welche geleistet werden muß, um diesen Abstand vom Betrage 0 auf den Wert h zu bringen), gleich

$$\frac{3}{2} kT \frac{h^2}{NA^2}.$$

Betrachten wir einen Faden vom Querschnitt 1 cm² und der Länge s cm, in welchem G solcher Netzbogen pro Kubikzentimeter enthalten sind, so ist die freie Energie, wenn h für alle Netzbögen denselben Wert besitzt, gleich $G \cdot s$ mal der freien Energie des einzelnen Netzbogens, also gleich

$$F = \frac{3}{2} kT \frac{h^2}{NA^2} G s. \qquad (4)$$

Die Rückstellkraft, gemessen in Dyn pro Quadratzentimeter eines solchen Fadens, ist offenbar gleich

$$\mathfrak{K}' = -\frac{\partial F}{\partial s},$$

wobei $G \cdot s$ (Zahl der insgesamt vorhandenen Netzbogen) konstant bleibt, also gleich:

$$\mathfrak{K}' = 3 kT \frac{h}{NA^2} G s \frac{\partial h}{\partial s}. \qquad (4a)$$

Wenn die Netzbogen alle in der Dehnungsrichtung fast völlig gestreckt sind, wird

$$\frac{\partial h}{\partial s} = \frac{h}{s} \simeq \frac{NA}{s},$$

und $\mathfrak{K}'$ erhält den praktisch möglichen Maximalwert $\mathfrak{K}'_{max}$, also

$$\mathfrak{K}'_{max} \simeq 3 kT G N. \qquad (4b)$$

Da pro Kubikzentimeter des Fadens G Netzbogen vorhanden sind, von denen jeder N statistische Fadenelemente der Länge A bzw. N statistische Fadenelemente vom Gewichte m_A besitzt, so ist das Gewicht der in einem Fadenstück der Länge 1 cm und vom Querschnitt 1 cm² enthaltenen kontraktilen Substanz, wenn g die Erdbeschleunigung bedeutet, gleich

$$g G N m_A. \qquad (4c)$$

Das Gewicht, das ein Faden, in dem die Netzbogen praktisch völlig gestreckt sind, von der Unterlage emporzuheben vermag, geteilt durch das Gewicht der pro Zentimeter des Fadens enthaltenen kontraktilen Substanz, wird jetzt gleich dem Quotienten aus (4b) und (4c):

$$\frac{3 kT G N}{g G N m_A} = \frac{3 kT}{g m_A} = \frac{3 RT}{g M_A} \qquad (5)$$

(maximale Rückstellkraft geteilt durch das Gewicht der pro Zentimeter Faden enthaltenen kontraktilen Substanz), wenn M_A das Molgewicht des statistischen Fadenelementes und R die universelle Gaskonstante bedeutet.

Es ist interessant, daß der Quotient (5) vom Polymerisationsgrad Z bzw. von der Zahl N der im Netzbogen vorhandenen statistischen Fadenelemente unabhängig ist. Er hängt außer von der Gaskonstante R, der Temperatur T und der Erdbeschleunigung g *nur vom Molgewicht des statistischen Fadenelementes ab.* Das Molgewicht M_A kann nach Tab. I für die in Frage kommenden Substanzen ungefähr gleich 10^3 gesetzt werden. Durch Einsetzen der Zahlenwerte in (5) erhält man dann für das Gewicht, welches der Faden maximal von der Unterlage emporzuheben vermag, geteilt durch das Gewicht der pro Zentimeter des Fadens enthaltenen kontraktilen Substanz, für $T = 291°$ abs.:

$$\frac{3 R T}{g M_A} = \frac{3 \cdot 8{,}31 \cdot 10^7 \cdot 291}{981 \cdot 10^3} = 74000. \qquad (6)$$

Das ist wiederum ungefähr dieselbe Zahl, welche experimentell beim Muskel sowie bei den Polyacrylsäure-Polyvinylalkoholfäden gefunden wurde.

Nach allem, was in § 2 und zu Beginn dieses Paragraphen gesagt wurde, ist (6) eine rohe Näherung. In Systemen, in welchen alle Netzbogen genau gleich groß und genau gleich orientiert sind, könnten auch größere Werte als (6) für die von einem Gramm kontraktiler Substanz entwickelte Rückstellkraft erhalten werden; die größeren Kräfte würden aber gemäß dem letzten Stück der ausgezogenen Kurve in Abb. 5 schon bei geringer Kontraktion des Systems auf den Wert (6), welcher dem gestrichelten Teil der Kurve in Abb. 5 entspricht, abfallen, um bei weiterer Kontraktion nach der gestrichelten Kurve von Abb. 5 ungefähr linear auf Null abzusinken.

7. *Vergleich der Kraft-Dehnungskurven*

Wir finden eine weitere Übereinstimmung zwischen dem Polyacrylsäure-Polyvinylalkoholmodell und dem natürlichen Muskel, wenn wir die Abhängigkeit der Länge des Versuchskörpers von der angelegten Zugspannung betrachten. Diese Abhängigkeit ist in Abb.

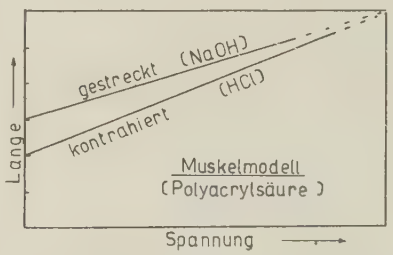


Abb. 10. Abhängigkeit der Faserlänge (Ordinate) von der angelegten Spannung (Abszisse) für das Polyacrylsäuremodell. Untere Kurve: Faser in saurer Lösung (entspricht dem zur Kontraktion gereizten Muskel). Obere Kurve: Faser in alkalischer Lösung (entspricht dem ruhenden, gestreckten Muskel).

10 für das Polyvinylalkohol-Polyacrylsäuremodell wiedergegeben. Die obere Kurve gibt die Faserlänge in Abhängigkeit von der dehnenden Kraft für die in alkalischer Lösung befindliche Faser, die untere Kurve dasselbe für die in saurem Medium befindliche Faser. Abb. 11 gibt das Analoge für den Froschmuskel, und zwar in der oberen Kurve für den ruhenden, nicht gereizten, ge-

streckten Muskel, in der untern Kurve für den zur Kontraktion gereizten Muskel.

Die Übereinstimmung besteht erstens darin, daß der unbelastete gedehnte (nicht gereizte) Muskel eine Länge besitzt, die etwa 1,5 mal so groß ist als die des unbelasteten kontrahierten Muskels, und daß die unbelastete gedehnte Polyacrylsäure-Polyvinylalkoholfaser ebenfalls etwa um den selben Faktor länger als die unbelastete kontrahierte Faser ist.

Eine zweite und besonders interessante Übereinstimmung besteht darin, daß bei sehr starker Belastung die Länge des *nicht gereizten* Muskels mit der des *gereizten* und auch die Länge der Polyacrylsäurefaser im alkalischen und sauren Medium übereinstimmt (Vereinigung bzw. Schnittpunkt der oberen und unteren Kurven von Abb. 10 und 11 für große Werte der Belastung).

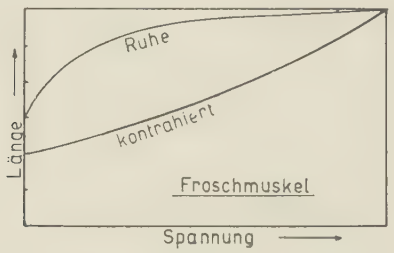


Abb. 11. Abhängigkeit der Faserlänge (Ordinate) von der angelegten Spannung (Abszisse) für den natürlichen Muskel. Untere Kurve: Zur Kontraktion gereizter Muskel. Obere Kurve: Ruhender Muskel. (Nach O. Meyerhof, Handbuch der normalen und pathologischen Physiologie, Band VIII, 1, S. 509.)

Wenn die auf den Polyacrylsäure-Polyvinylalkoholfaden wirkende dehnende Kraft (Abszissenwert Abb. 10) gesteigert wird, zerreißt der Faden kurz vor Erreichung des Schnittpunktes der beiden Kurven. Entsprechendes gilt für den Muskel, bei welchem ebenfalls bei Überschreitung der dem Schnittpunkt der beiden Kurven entsprechenden Zugkraft Zerreißen eintritt[1]. Beim Polyacrylsäure-Polyvinylalkoholmodell haben wir dieses Verhalten dadurch zu deuten, daß bei Anwendung einer genügend großen dehnenden Kraft sowohl im alkalischen als auch im sauren Medium eine völlige Streckung der Netzbogen erzwungen wird und daß eine Dehnung der Probe über diesen Punkt hinaus in keinem Medium möglich ist. Es liegt nahe, die für den Polyacrylsäurefaden angegebene Deutung für das Auftreten eines «Schnittpunktes» der Kurven in Abb. 10 und die Deutung für das Zusammenfallen dieses Schnittpunktes mit der Zerreißgrenze auch auf den Muskel zu übertragen. Es würde hiernach auch beim Muskel vorgängig der Zerreißung eine völlige Streckung der Moleküle eintreten, und es wäre die Kraft und der Dehnungsgrad, bei welchem das Zerreißen eintritt, für den ruhenden und den gereizten Muskel praktisch genommen identisch.

[1] Vgl. z.B. E. Wöhlisch, Pflügers Arch. ges. Physiol. *246*, 354 (1942).

Wir können zusammenfassend feststellen, daß zwischen dem Verhalten des natürlichen Muskels und dem der Polyacrylsäure-Polyvinylalkoholfasern bemerkenswerte Ähnlichkeiten bestehen; sie beziehen sich namentlich auf die Kraft, welche im Maximum pro Gramm der in einem Faden der Länge 1 cm enthaltenen kontraktilen Substanz ausgeübt wird und auf den Verlauf der Spannung in Abhängigkeit von der Länge im nicht gereizten und gereizten Muskel bzw. bei der im alkalischen und sauren Medium befindlichen Polyacrylsäurefaser.

Es ist anderseits festzuhalten, daß neben den Analogien auch Unterschiede bestehen. Die Tatsache, daß mit der Dehnung eine Quellung, mit der Kontraktion eine starke Entquellung der Polyacrylsäure-Polyvinylalkoholfaser verbunden ist, zeigt insbesondere, daß der Ordnungszustand, d.h. die Parallelorientierung der Polyacrylsäurefäden, in unserem Modell trotz Streckvulkanisation nicht so gut ist wie beim natürlichen Muskel.

Die Versuche zeigen jedoch, daß es tatsächlich möglich ist, durch Änderung des Ionisationszustandes von aus polyvalenten Fadenmolekülen gebildeten Netzwerken eine weitgehende Streckung der Netzbogen zu erreichen, daß die gestreckten Netzbogen, falls die elektrolytische Dissoziation des Netzwerkes rückgängig gemacht wird, die Tendenz haben, in einen statistisch geknäuelten Zustand zurückzukehren, daß diese Tendenz sich auf ein makroskopisches System (Faser) übertragen läßt und daß sie stark genug ist, um die vom Muskel hervorgebrachte Kraft zu erzeugen.

Wir haben darauf hingewiesen, daß beim natürlichen Muskel die Anordnung der Fäden oder Netzbogen voraussichtlich besser geordnet ist als beim Polyacrylsäuremodell. Ferner ist es sicher, daß, falls eine Streckung von Fäden oder Netzbogen beim ruhenden Muskel durch eine elektrische Aufladung infolge elektrolytischer Dissoziation erfolgt, in der Hauptsache nicht ein durch Alkali herbeigeführter Übergang der undissoziierten Säure ins dissoziierte Salz vorliegt, daß anstatt dessen vielleicht die Unterschiede im elektrolytischen und chemischen Verhalten von Kalium und Natrium ausgenützt werden. Es ist ferner gut möglich, daß zur Stabilisierung des gestreckten Zustandes der Netzbogen im ruhenden Muskel außer der elektrolytischen Aufladung weitere ergänzende Kräfte, wie beispielsweise eine teilweise Kristallisation zu Hilfe genommen werden, Zusatzeffekte, durch welche der gestreckte (ruhende) Zustand etwas stabilisiert und die bei der Reizung auftretende Rückstellkraft etwas erniedrigt würde. Es kann dies alles in solcher Weise geschehen, daß das Gesamtbild erhalten bleibt: 1. Streckung der Netzbogen durch Aufladung der Fadenteile infolge elektrolytischer Dissoziation (unter eventueller Stabilisierung des gedehnten Zustandes), und 2. Zusammenziehung der elektrolytisch nicht aufgeladenen Netz-

bogen bei der Arbeitsleistung des Muskels entsprechend einem Übergang in einen statistisch wahrscheinlicheren Zustand.

Summary

The behaviour of three-dimensional networks whose filaments consist, at least partly, of linear polyelectrolytes of high molecular weight, is in essential respects similar to the behaviour of biological contractile systems of the muscle type. Accordingly, artificial networks built up partly of polyacrylic acid show large reversible dilations and contractions when their ionization is increased or decreased through the addition of alkali or acid respectively to the surrounding medium. By means of the contractions thus produced chemical energy can be transformed into mechanical energy.

The dilation and contraction of the large scale system corresponds to the change in average shape that the separate polyvalent chain molecules undergo in solution when the degree of ionization is altered e.g. by addition of alkali or acid to a dilute aqueous solution of polyacrylic acid. Complete stretching is in the case of this example produced by alkali (increased ionization of the polyvalent acid), coiling up, on the other hand, by the addition of acid (transition from the ionized to the electrolytically undissociated state). The retractive force which causes a nearly stretched unionized molecule to contract is of the same nature as the retractive force in stretched rubber and can be calculated by the use of the same formulæ. By applying this result to a three-dimensional network formed of polyvalent chain molecules, the maximum weight which can just be lifted away from a support can be calculated approximately. It is thereby imagined that the network before being connected to the weight is first stretched by an ionizing agent and then caused to contract by transition to the unionized state. From this consideration the maximum weight is expected to be about 70,000 times the weight of the contractile substance contained in a length of 1 cm of the sample. Experimentally it is shown that in the case of networks containing 80% of polyvinylalcohol and 20% of polyacrylic acid the maximum weight which may be lifted is indeed about 15,000 to 70,000 times the weight of the polyacrylic acid contained in 1 cm of the sample, while the corresponding figure for natural muscle is 15,000 to 60,000. The efficiency of the artificial system thus equals approximately that of the natural muscle and can be accounted for theoretically in a more or less quantitative way.

L'action indirecte du rayonnement X et ultra-violet[1]

Par Z. M. Bacq[2]

On a répandu, ces dernières années, une abondante littérature basée sur l'affirmation suivante: *le rayonnement atomique est de nature physique, on ne peut se protéger contre ce rayonnement que par des moyens physiques*. Ce raisonnement simpliste est évidemment faux.

Le mode d'action des rayonnements atomiques est identique – ou tout au moins semblable – à celui du rayonnement X, qu'il est plus aisé de doser et de manipuler avec précision. Or, depuis 1940 et surtout dans ces deux ou trois dernières années, le concept d'une action indirecte des rayons X s'est imposé par une série d'expériences faites indépendamment dans divers pays et dont les résultats sont, en général, fort concordants. Nous nous proposons d'exposer l'essentiel de ces faits et de comparer brièvement l'action des X à celle des U.V.[3].

I. *Définitions.* – Un certain nombre de radiochimistes et de radiobiologistes réunis le 19 juillet 1950 à Paris[1] ont proposé officieusement d'admettre les définitions suivantes. On parle d'action *directe* lorsque la collision ou l'ionisation provoquée par un rayon se fait dans la molécule ou sur la surface (ce sont surtout les molécules protéiques en solution dans un milieu aqueux qui intéressent les radiobiologistes), même si le résultat est simplement d'activer cette molécule et de la rendre sensible à un enzyme dissous dans le milieu.

L'action *indirecte*, au contraire, suppose que l'ionisation du solvant donne naissance à des radicaux libres qui réagissent avec les molécules protéiques ou tout autre accepteur en solution dans le milieu (fig. 1). Le critère de l'action *indirecte*, c'est l'effet de dilution (diminution du rendement ionique lorsque l'enzyme exposé aux rayons X est très dilué); l'autre critère moins certain est l'effet de protection dont il sera question plus loin.

On appelle *actions à distance* les effets observés sur un tissu non irradié d'un être vivant dont certaines parties seulement sont soumises à l'action d'un rayonnement. Dans ces actions *à distance* peuvent inter-

[1] D'après une conférence tenue à l'occasion de l'inauguration de l'Institut Théodore Kocher, à Berne, le 8 juillet 1950.

[2] Laboratoire de Pathologie Générale, Université de Liège. Centre National de Recherche sur la Croissance Normale et Pathologique.

[3] Revues générales à consulter: D. E. Lea, *Actions of radiations on living cells* (MacMillan Co., New-York, 1947). – Divers auteurs, Brit. Med. Bull., premier fascicule du vol. *4* (1946). – G. Hevesy, Rev. Modern Physics *17*, 102 (1945). – R. L. Dobson et J. H. Lawrence, Ann. Rev. Physiol. *10*, 479 (1948). – A. Herve, Revue Médicale de Liège *4*, 510 (1949). – M. Errera et A. Herve, *Mécanismes de l'action biologique des radiations*, Desoer, Liège (sous presse).

[1] A l'occasion de la commémoration du cinquantenaire de la découverte du radium.

venir des glandes endocrines, le système nerveux, le transport par les humeurs (ou la diffusion) de substances antimitotiques élaborées dans les tissus irradiés.

II. – *La théorie de la cible* (hit theory)[1] veut qu'une mutation soit causée par un seul choc direct sur la cible sensible et que ce choc soit provoqué par une seule ionisation[2].

Elle est née du désir d'expliquer pourquoi, en 1935, les rayons X (ou du radium) étaient les seuls agents mutagènes connus; elle n'était en contradiction avec aucun fait observé à cette époque. Elle reposait sur trois séries d'observations: *a*) le pourcentage de mutations léthales est directement proportionnel à la quantité de rayonnement administré; *b*) la fréquence des mutations est indépendante de l'intensité de la radiation, la même quantité totale d'X produisant le même nombre de mutations, quelle que soit l'intensité du rayonnement; *c*) la fréquence des mutations est, dans de larges limites, indépendante de la longueur d'onde.

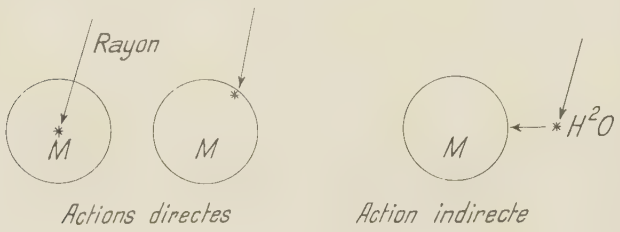


Fig. 1.

Cette théorie n'est plus valable, dans son exclusivité, parce que: 1° de nombreuses substances chimiques sont radiomimétiques, c'est-à-dire reproduisent presque parfaitement les effets du rayonnement X (et aussi des rayons ultra-violets); 2° les rayons X, à doses modérées, inactivent des enzymes; dans le cas des ultra-violets, des intermédiaires chimiques ont été saisis; 3° divers agents chimiques (cyanure, nitrure, cystéine, etc.) modifient considérablement l'action du rayonnement X. Les faits qui servent de base à la théorie de la cible (la théorie de l'action *directe* du rayonnement sur le récepteur) ne sont pas incompatibles avec une théorie d'action indirecte. Il suffit d'admettre que les intermédiaires chimiques sont insensibles aux modifications physico-chimiques du milieu à l'intérieur ou à l'extérieur des cellules[3].

III. – *Les substances chimiques radiomimétiques ou mutagènes.* Ce sont surtout les études sur les ypérites (au soufre et à l'azote) qui ont imposé la notion que certaines substances chimiques sont susceptibles de reproduire fidèlement l'action des rayons X. Les recherches d'Auerbach, Robson et Carr[1] chez la Drosophile ont été confirmées et sont en parfait accord avec les résultats obtenus avec un *Neurospora*[2] et avec un *Paramœcium*[3]. Chez *Neurospora crassa*, le sulfure de $\beta\beta'$-dichloréthyle (ypérite au soufre) provoque l'apparition de 29 mutants (17 visibles et 12 biochimiques); la fréquence de ces mutations (7,6%) est voisine de celle qu'on obtient avec le rayonnement ultra-violet; les mutants incapables de synthétiser la méthionine sont les plus fréquents, comme c'est le cas dans les mutations provoquées par les radiations. Un seul mutant a été obtenu avec l'ypérite qui n'avait pas été vu après irradiation[4].

Sur le même organisme, l'ypérite à l'azote (N-méthyl-bis-chloroéthylamine) provoque aussi un haut pourcentage de mutations (17%) qui sont semblables à celles qu'on obtient avec le rayonnement X[5]. Il est difficile de préciser si la fréquence des diverses mutations chez *Neurospora* diffère de façon significative quand on compare l'action des U.V., des X et des ypérites. Une irradiation à l'infrarouge proche augmente la fréquence des translocations chromosomiales chez la Drosophile soumise à l'action des rayons X ou de l'ypérite à l'azote, à la condition d'être faite *avant* l'exposition aux rayons X ou à l'ypérite[6].

Si les mêmes mutations sont produites par les ypérites que par les X, une analyse détaillée démontre néanmoins qu'il y a des différences, notamment dans la proportion des mutations géniques et des réarrangements chromosomiques[7]; mais combien ces différences sont faibles par rapport aux similitudes!

Depuis les travaux d'Auerbach, la liste des substances mutagènes s'est considérablement allongée; trois organismes, la Drosophile, *Neurospora* et *Escherichia coli* ont été particulièrement étudiés. Les phénols, la formaldéhyde, l'uréthane sont mutagènes chez l'insecte comme sur le bacille. Le chlorure ferreux, chose étonnante, serait sur *E. coli* un mutagène aussi puissant que l'ypérite ou les radiations alors que

[1] Voir un bel exposé récent de la théorie de la cible dans: W. Minder et A. Liechti, Exper. *1*, 298 (1945). Ces auteurs montrent toute l'importance de l'activation de l'eau dans les suites chimiques et biologiques des irradiations ionisantes.

[2] N.W. Timofeef-Ressovsky, K.G. Zimmer et M. Delbrück, Nachr. Ges. Wiss. Göttingen, N.S. *1*, 189 (1935).

[3] E. Caspari, *Production of mutations by ionizing radiations.* Brookhaven Conference. Report BNL-C-4. Biological applications of nuclear physics, July 12–17, 1948.

[1] C. Auerbach, J.M. Robson et J.G. Carr, Science *105*, 243 (1947). – C. Auerbach et J.M. Robson, Proc. Roy. Soc. Edinburgh B *62*, 271 (1947).

[2] N.H. Horowitz, M.B. Houlahan, M.G. Hungate et B. Wright, Science *104*, 233 (1946). – W.D. McElroy, J.E. Cushing et H. Miller, J. Cell. Comp. Physiol. *30*, 331 (1947).

[3] R.P. Geckler, Genetics *35*, 253 (1950).

[4] N.H. Horowitz, M.B. Houlahan, M.G. Hungate et B. Wright, Science *104*, 233 (1946).

[5] W.D. McElroy, J.E. Cushing et H. Miller, J. Cell. Comp. Physiol. *30*, 331 (1947). – E.L. Tatum, Cold Spring Harbor Symp. *11*, 278 (1946).

[6] B.P. Kaufmann, H. Gay et H. Rothberg, jr., J. exper. Zool. *111*, 415 (1949). – B. P. Kaufmann et K. Wilson, Genetics *34*, 425 (1949).

[7] Voir notamment C. Auerbach et aussi d'autres auteurs dans: Pubbl. Staz. zool. Napoli, *22*, suppl. (1950); C. r. d'un symposium sur *Les agents mutagènes* tenu à Naples du 27 au 31 mai 1949.

l'action des carcinogènes devient douteuse[1]. Le cyanure et le nitrure sont mutagènes[2]. Certaines substances qui bloquent les fonctions sulfhydryles: isosulfocyanate d'allyle[3], les diépoxides et les peroxydes[4], peut-être les métaux lourds[1], sont mutagènes et inhibent la croissance[5]. Il ne semble pas y avoir de relation nécessaire entre l'effet mutagène et l'action thioloprive; en effet, la chloropicrine qui réagit très activement avec les fonctions thiols[6] n'est pas mutagène chez la Drosophile[7] bien qu'elle soit un excellent inhibiteur de la croissance du pois[8] et des embryons de batraciens[9]. Peut-être faut-il dissocier action mutagène et inhibition de croissance. En effet, tous les corps thioloprives, tous les bloqueurs de fonctions –SH paraissent inhiber la croissance du pois[10] ou des cultures de fibroblastes[11].

L'hypothèse d'une action «thioloprive» (d'un blocage des groupes –SH) retient l'attention de Clark, Wyss et Stone[12] qui y cherchent l'interprétation de l'action mutagène sur *Micrococcus pyogenes* de la 2-méthyl-1,4-naphtoquinone (homologue de la vit. K) à la concentration de $1 \cdot 10^{-6}$; les quinones oxydent facilement les groupes sulfhydryles que la présence de cystéine protège efficacement. Selon ces auteurs, l'absence d'effet mutagène (sur leur test) des sels de Hg, Cu et Ag pourrait s'expliquer par une non-pénétration jusqu'au matériel génétique. Les recherches de Dustin jr. et de Parmentier[13] montrent que les actions de nombreuses substances antimitotiques s'expliquent par leur affinité pour les fonctions –SH, mais que cette interprétation est loin de rendre compte de tous les faits.

Il est évidemment trop tôt pour se faire une idée générale précise des substances chimiques mutagènes et surtout de leur mode d'action; mais le fait paraît indéniable que des substances variées soient susceptibles de produire des effets biologiques qui étaient considérés, il y a quelques années, comme spécifiques des rayons X. On pourrait peut-être renverser le problème et se demander si l'action radiomimétique des ypérites n'est pas liée au fait que ces corps, dès qu'on les met en solution dans l'eau, libèrent des radicaux libres tout comme l'irradiation aux X (voir plus loin). Il semble qu'on s'oriente dans cette direction[1].

IV.– *Le rayonnement ultra-violet agit indirectement par formation de peroxydes.* En 1941, on défendait l'idée que les radiations ultra-violettes agissent directement sur les chromosomes, voire les gènes, parce que le maximum d'efficacité mutagène se trouve aux environs de 260 mμ, région dans laquelle l'acide nucléique absorbe fortement[2]. Cependant, déjà en 1936, Arnow[3] attirait l'attention sur le fait que l'eau oxygénée reproduit l'effet des radiations sur les protéines et les acides aminés. Les expériences récentes appuient de façon formelle la conception d'une action indirecte. En effet, le bouillon irradié aux U.V. avant l'inoculation de *Staphylococcus aureus* provoque l'apparition d'un fort pourcentage de mutants résistants à la pénicilline ou à la streptomycine, ou encore inaptes à fermenter le mannitol[4]. Le peroxyde d'hydrogène joue un rôle certain. La catalase fait disparaître les actions du bouillon irradié sur *S. aureus*. En ajoutant à un bouillon normal la quantité d'H_2O_2 dosée dans le bouillon irradié, on reproduit les effets du milieu irradié sur la croissance et la fréquence des mutations de *S. aureus*[5]. Catalase et peroxydase réactivent jusqu'à 20% des *E. coli* stérilisés par les rayons U.V.[6].

On peut faire à ces recherches le reproche d'être faites sur des populations plutôt que sur des individus[7]. Stone et ses collaborateurs[8] ont montré qu'il s'agit bien de mutation et non de sélection; mais l'objection est définitivement écartée par des études récentes[9] sur une souche non spontanément mutante de *Neurospora crassa* dont on traite les conidies qui sont ensuite mises à copuler sur agar; les ascospores sont isolés et traités *individuellement* en vue de déceler une modification morphologique ou une lésion biochimique. L'irradiation directe aux U.V. donne un pourcentage élevé de mutants (0,65%); l'exposition pendant 12 heures au milieu nutritif irradié aux U.V. pendant 30 à 120 minutes donne 0,21% de mutants; l'eau oxygénée $1 \cdot 10^{-6}$, 0,24%[10].

[1] M. Demerec et coll., Ann. Rep. Depart. Genetics Carnegie Inst. Washington no. 48, p. 157 (1949).

[2] R. P. Wagner, C. H. Haddox, R. Fuerst et W. S. Stone, Genetics *35*, 237 (1950). – O. Wyss, J. B. Clark, F. Haas et W. S. Stone, J. Bact. *56*, 51 (1948).

[3] C. Auerbach et J. M. Robson, Nature *154*, 81 (1944).

[4] O. Wyss, J. B. Clark, F. Haas et W. S. Stone, J. Bact. *56*, 51 (1948). – F. H. Dickey, G. H. Cleland et C. Lotz, Proc. Nat. Acad. Sci. *35*, 581 (1949). – W. C. J. Ross, Nature *165*, 808 (1950).

[5] R. Parmentier et P. Dustin, Nature *161*, 527 (1948). – P. Dustin et C. Gompel, C. r. Soc. Biol. *143*, 874 (1949).

[6] Z. M. Bacq, Exper. *2*, 1 (1946). – V. Desreux et P. Fischer, Actualités Biochimiques, Desoer, Liège, *10*, 127 (1947).

[7] C. Auerbach, Exper. *6*, 17 (1950).

[8] C. Heusghem, J. Firket et Z. M. Bacq, Bull. Soc. Chim. Biol. *29*, 453 (1947).

[9] J. Brachet, *Embryologie chimique* (Desoer, Liège, 1943).

[10] J. Firket et Z. M. Bacq, observations inédites.

[11] E. Friedmann, D. H. Marrian et I. Simon-Reuss, Brit. J. Pharmacol. *3*, 335 (1948) et *4*, 105 (1949).

[12] J. B. Clark, O. Wyss et W. S. Stone, Nature *166*, 340 (1950).

[13] P. Dustin, Acta Unio Internat. contra cancrum *6*, 466 (1949).

[1] W. C. J. Ross, Nature *165*, 808 (1950).

[2] A. Hollaender et C. W. Emmons, Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol. *9*, 179 (1941).

[3] L. E. Arnow, Physiol. Rev. *16*, 671 (1936).

[4] W. S. Stone, O. Wyss et F. Haas, Proc. Nat. Acad. Sci. U.S. *33*, 59 (1947). – W. S. Stone, F. Haas, J. B. Clark et O. Wyss, Proc. Nat. Acad. Sci. U.S. *34*, 142 (1948).

[5] O. Wyss, J. B. Clark, F. Haas et W. S. Stone, J. Bacter. *56*, 51 (1948).

[6] J. Monod, A. M. Torriani et M. Jolit, C. r. Acad. Sci. *229*, 557 (1949).

[7] E. Caspari, *Production of mutations by ionizing radiations.* Brookhaven Conference. Report BNL-C-4. Biological application of nuclear physics, July 12–17, 1948.

[8] W. S. Stone, F. Haas, J. B. Clark et O. Wyss, Proc. Nat. Acad. Sci. *34*, 142 (1948).

[9] R. P. Wagner, C. H. Haddox, R. Fuerst et W. S. Stone, Genetics *35*, 237 (1950).

[10] R. P. Wagner, C. H. Haddox, R. Fuerst et W. S. Stone, Genetics *35*, 237 (1950).

Les cyanures (et aussi les nitrures) sont des inhibiteurs des catalases qui décomposent H_2O_2; ils devraient, théoriquement, assurer une accumulation, dans les cellules, du peroxyde d'hydrogène formé au cours de nombreuses réactions métaboliques, et par conséquent être mutagènes. L'expérience confirme cette prévision; KCN 0,05% donne chez *Neurospora* 0,27% de mutants; mais si l'on ajoute le cyanure au milieu irradié, on n'observe pas l'addition d'effet à laquelle on s'attend. Le mode d'action du cyanure n'est donc pas élucidé[1].

L'eau oxygénée formée pendant l'irradiation agit-elle directement sur les récepteurs cellulaires? Est-elle l'agent mutagène vrai? Il semble que non. En effet, si l'on traite un bouillon par H_2O_2, qu'on attende que la présence de ce peroxyde ne soit plus décelable, on obtient après ensemencement avec *E. coli* le même résultat que si l'organisme est mis en présence du peroxyde. Si l'on traite par H_2O_2 des *S. aureus* lavés, mis en suspension en solutions salines, on ne retrouve pas dans les survivants plus de mutants que chez les témoins[2]. Il semble que le peroxyde d'hydrogène provoque la formation dans le bouillon de peroxydes organiques. Les peroxydes organiques sont chez *Neurospora* des agents mutagènes[3]. Ces peroxydes organiques peuvent d'ailleurs être obtenus directement par irradiation, sans passer par le peroxyde d'hydrogène. Les lipides par exemple s'oxydent très rapidement sous l'influence de la lumière visible et du rayonnement ultra-violet; au contraire, et c'est là une différence considérable, une irradiation, même violente, aux X ne modifie pas les molécules lipidiques. On observe des modifications des tissus graisseux après irradiation aux X, mais ces actions sont relativement lentes et dues à des troubles métaboliques généraux[4]. Les peroxydes organiques ont aussi une action inhibitrice sur l'éclosion du cancer au benzopyrène de la souris[5].

Cette théorie de l'action du rayonnement ultra-violet par l'intermédiaire de peroxydes nous ramène aux recherches publiées en 1904 par Straub[6] et qu'on semble oublier (voir toutefois[7]). Straub avait établi que les effets photodynamiques étaient dus à l'oxydation de certains constituants cellulaires, notamment par l'intermédiaire d'un peroxyde d'éosine formé pendant l'irradiation. On a parlé couramment, en 1920, de photooxydation des protéines, des acides aminés, du plasma[1]. En somme, rien de bien révolutionnaire dans toute cette littérature moderne sur les U. V., sauf peut-être l'action mutagène des peroxydes (qui n'est d'ailleurs pas admise par certains auteurs[2]).

V.– *Action à distance et actions indirectes du rayonnement X.* Il y a des effets *à distance* du rayonnement X chez les mammifères. Par exemple, chez le rat cancéreux, les tumeurs non irradiées sont affectées (arrêt de la formation d'acide nucléique) par l'irradiation d'autres tumeurs[3]. Un groupe de biologistes liégeois a montré aussi que l'irradiation des seules pattes postérieures du lapin provoque des modifications dans le cerveau, la moelle des os non irradiés, les surrénales; mais on peut interpréter ces faits comme le résultat de la réaction neuro-endocrinienne du «stress» (voir [4]) et non comme une preuve formelle du transport par les humeurs de substances antimitotiques formées au lieu de l'irradiation[5,6].

De toute évidence, il est nécessaire de s'adresser à des systèmes biologiques plus simples, et on songe tout d'abord aux enzymes. Mais, avant d'aborder cette question, il est bon de résumer brièvement nos connaissances sur les effets purement chimiques des rayons X ainsi que les conceptions modernes sur l'activation de l'eau par ce rayonnement.

VI. – *Effets physico-chimiques des rayons X*[7] *sur l'eau et les substances en solution aqueuse.* Risse[8] a le premier formulé avec netteté une théorie de l'activation de l'eau par les radiations ionisantes, théorie qui s'est singulièrement précisée récemment à cause du grand intérêt que les biologistes lui accordent. Risse confirme des travaux antérieurs, remontant à 1909 et montre que si les radiations ionisantes provoquent la formation dans l'eau de quantités dosables d'H_2O_2 à la

[1] R. P. Wagner, C. H. Haddox, R. Fuerst et W. S. Stone, Genetics *35*, 237 (1950).

[2] O. Wyss, J. B. Clark, F. Haas et W. S. Stone, J. Bact. *56*, 51 (1948).

[3] F. H. Dickey, G. H. Cleland et C. Lotz, Proc. Nat. Acad. Sci. *35*, 581 (1949).

[4] A. Chevallier et E. Burg, communication personnelle.

[5] J. Maisin et F. Robert, C. r. Soc. Biol. *123*, 26 et 156 (1936). – J. Maisin, Y. Pourbaix et P. Caeymaex, C. r. Soc. Biol. *127*, 14 et 1479 (1948).

[6] W. Straub, Arch. exper. Path. und Pharm. *51*, 383 (1904).

[7] H. Blum, Physiol. Rev. *12*, 23 (1932).

[1] D. T. Harris, Biochem. J. *20*, 280 et 288 (1926).

[2] R. Latarjet, N. P. Buu-Hoi et C. A. Elias, Publ. Staz. zool. Napoli *22*, suppl., p. 78 (1950).

[3] G. Hevesy, Rev. Modern. Physics *17*, 102 (1945).

[4] H. Selye, Stress, Acta Inc., Montreal, 1950.

[5] M. A. Gerebtzoff et A. Herve, C. r. Soc. Biol. *143*, 880 (1949). – E. Nizet, C. Heusghem et A. Herve, C.r. Soc. Biol. *143*, 876 (1949). – J. Lecomte et P. Fischer, C. r. Soc. Biol. *143*, 878 (1949). – H. Betz et J. Lecomte, C. r. Soc. Biol. *144*, 303 (1950).

[6] Cette critique ne peut s'appliquer aux faits décrits par B. Jolles (Nature *164*, 63 [1949]): si chez l'homme on irradie aux X deux surfaces cutanées de 2,5 × 2,5 cm, distantes de moins de 3 cm, les réactions de la peau sont plus fortes que si on irradie deux surfaces identiques non voisines. L'idée d'une substance diffusible élaborée dans la peau irradiée rend compte de ce fait.

[7] On peut admettre que, malgré certaines différences susceptibles de s'accentuer dans un avenir proche, le mode d'action des rayons α, β, γ et des neutrons est fondamentalement le même que celui des X. Voir R. L. Dobson et J. H. Lawrence, Ann. Rev. Physiol., 1948, un travail récent de W. M. Dale, L. H. Gray et W. J. Meredith, Trans. Roy. Soc. London, A, *242*, 33 (1949), où l'action des rayons α sur un enzyme est comparée à celle des X; et l'inhibition des enzymes à fonctions –SH par les rayons α, β et γ, par E. S. G. Barron et S. Dickman, J. Gen. Physiol. *32*, 595 (1949).

[8] O. Risse, Die physikalischen Grundlagen der chemischen Wirkungen des Lichts und der Röntgenstrahlen, Ergebn. Physiol. *30*, 242 (1930).

condition que l'eau renferme de l'oxygène dissous, les mêmes radiations détruisent le peroxyde d'hydrogène en solution. Il s'établit un équilibre dans l'eau irradiée en présence d'oxygène moléculaire, et la teneur en peroxyde n'atteint pas les concentrations qu'on observe avec les U.V. L'action chimique des radiations ionisantes est double, oxydante ou réductrice: réduction des halogénures d'argent (plaques photographiques) oxydation de H_2S (précipitation de soufre colloïdal), oxydation de sels ferreux en sels ferriques, de l'oxyhémoglobine en méthémoglobine, d'aldéhyde en acide, etc.

En 1942, Loiseleur et Latarjet[1] observent aussi la formation de peroxyde d'hydrogène et d'hydroperoxydes organiques par irradiation aux X de l'eau et de certains corps organiques dissous. Loiseleur[2] montre que si les X activent à la fois l'oxygène et l'hydrogène, seul l'oxygène est présent au début, et que, avec les doses d'X qu'utilisent les biologistes, seule l'activation de l'oxygène est à considérer. Au récent colloquium organisé à Paris lors de la commémoration du cinquantenaire de la découverte du radium, il apparut clairement 1° que les effets purement réducteurs des rayons X sont très rares, 2° que l'établissement d'un équilibre fixe d'oxydoréduction est plus fréquent, 3° que les effets d'oxydation sont de loin prépondérants[3]. Il est assez amusant de voir que l'oxydation du benzène en phénol, ou de l'acide benzoïque en acide salicylique, permet de doser un rayonnement X de façon précise[4]. Il ne peut s'agir de toute évidence d'une action *directe* du rayon sur la molécule en solution. Les auteurs s'accordent pour chercher une interprétation de leurs résultats dans le cadre de la chimie des radicaux libres[5], et les physico-chimistes stimulés par les biologistes et les radiochimistes étudient en détail ce qui se passe dans l'eau et les solutions aqueuses soumises au rayonnement X.

L'accord n'est pas encore réalisé parmi les spécialistes de cette question, mais il semble acquis que ce qui se passe dans les systèmes gazeux s'applique également aux solutions aqueuses. Le phénomène photochimique primordial consiste en l'enlèvement d'un électron et à son transfert sur une autre molécule ou un autre ion. Si un électron est arraché à une molécule d'eau ($H_2O - e = H_2O^+$), la molécule peut se briser en un ion hydrogène et un radical libre oxyhydryle ($H_2O^+ \rightarrow H^+ + OH$). L'électron éjecté peut s'attacher à un ion H ou à une molécule d'eau ($H^+ + e = H$ ou bien $H_2O + e = H + OH^-$). On peut aussi admettre avec Weiss que le rayon X arrache un électron à l'ion OH qui se transporte aussitôt sur l'hydrogène: $OH^- - e = OH$; $H^+ + e = H$. La production d'hydrogène libre, atomique, et de radicaux libres OH explique fort bien les réactions chimiques qui se produisent en solutions aqueuses sous l'influence des rayons X.

Ce point de départ étant admis, de multiples possibilités de réactions se présentent entre ces radicaux libres, les molécules d'eau, l'oxygène ou les autres substances dissoutes dans l'eau. L'exposé et la discussion de ces réactions sort du cadre de cet article; le lecteur trouvera de quoi satisfaire sa curiosité sur ce point particulier en consultant le livre de Lea[1], la revue de Allsopp[2], les notes de Weiss[3], les travaux de Dale et collaborateurs, de Barron et collaborateurs, et les comptes rendus des récents colloquia de Paris et de Londres.

Il faut insister sur le fait que cette interprétation n'exclut pas la possibilité d'une attaque *directe* de la substance dissoute elle-même; l'action directe coexiste presque certainement avec l'indirecte. Dans de nombreux cas (voir Lea et Dale), on a pu évaluer ce qui, dans des conditions physico-chimiques bien définies, revient à l'effet direct et ce qui est dû à l'action indirecte.

Le premier corollaire de cette conception d'une action *indirecte* des X est d'attirer l'attention sur le solvant. La tendance classique en radiobiologie a toujours été de considérer uniquement les propriétés du rayonnement et celles du tissu sensible, et de ne point préciser certaines conditions importantes du milieu ambiant, ou de négliger celles-ci dans l'interprétation des résultats. Les cultures de tissus résistent fort bien aux rayons X. Cette insensibilité n'est-elle pas liée à une propriété du milieu de culture plutôt qu'à l'absence d'un récepteur particulièrement important dans l'intérieur des cellules? L'absence d'eau – c'est-à-dire du premier substrat sur lequel les X agissent – n'est-elle pas la cause profonde de la radioinsensibilité des graines sèches, insensibilité qui disparaît quand la graine est imbibée d'eau?

VII. – *Action du rayonnement x sur les enzymes.* Pendant fort longtemps, on a cru que les enzymes *in vitro* étaient très peu sensibles aux rayons X. On sait actuellement qu'il n'en est rien. Forrsberg[4] observe une très nette inactivation de la catalase avec 5 r; en 1940, Dale[5] avait déjà montré que 45 r inactivent une partie appréciable des molécules de carboxypeptidase cristallisée.

[1] J. Loiseleur et E. Latarjet, Bull. Soc. chim. Biol. *24*, 172 (1942).
[2] J. Loiseleur, Bull. Soc. chim. Biol. *25*, 22 (1943).
[3] Voir surtout la communication de M. Haissinsky et M. Lefort et P. Bonnet-Maury et M. Lefort, C. r. Acad. Sci. Paris *226*, 1363 et 1445 (1948).
[4] M. J. Day et G. Stein, Nature *164*, 671 (1949).
[5] Voir à ce sujet W. A. Waters, *The Chemistry of free Radicals*, (Clarendon Press, Oxford, 1948), 295 p.

[1] D. E. Lea, *Actions of radiations on living cells* (MacMillan Co., New-York, 1947).
[2] C. B. Allsopp, Trans. Faraday Soc. *40*, 79 (1944).
[3] J. Weiss, Nature *153*, 748 (1944). – G. Stein et J. Weiss, Nature *161*, 650 (1948).
[4] A. Forrsberg, Nature *159*, 308 (1947).
[5] W. M. Dale, Biochem. J. *34*, 1367 (1940) et *36*, 80 (1942).

Selon Evans[1], l'irradiation de l'eau aux rayons X provoque la formation d'une quantité d'H_2O_2 suffisante pour modifier les propriétés du sperme d'*Arbacia* (diminution du temps de survie, délai considérable pour la 1re division de l'œuf fécondé par ces spermatozoïdes). L'H_2O_2 reproduirait ces effets. Un traitement de l'eau irradiée par la catalase leur enlève toute activité. Cependant une solution de Ringer fortement irradiée n'acquiert pas la propriété de provoquer la contracture après travail du muscle de grenouille[2]; de même si l'on irradie (35 000 r) l'HCl dilué dans lequel on dissout ensuite une trypsine cristallisée, on n'observe aucune inactivation[3]. L'eau oxygénée 0,1 M n'inactive pas la carboxydipeptidase si sensible aux rayons X[4]. On peut donc conclure que ni H_2O_2 ni d'autres substances relativement *stables* formées pendant l'irradiation ne sont responsables des effets observés.

La théorie qui veut que les radicaux libres soient les agents de l'action indirecte des rayons X comporte un certain nombre de corollaires vérifiés expérimentalement par Dale et ses collaborateurs dans leurs recherches sur la carboxydipeptidase[5] et par Kaufmann et ses collaborateurs dans leurs études sur la trypsine[3].

1° Les radicaux libres peuvent soit réagir avec un substrat présent dans la solution (ce sont les radicaux *efficaces*), soit se recombiner entre eux et, par conséquent, s'inactiver sans avoir produit le moindre effet. Si la concentration du substrat sensible est faible, les chances de recombinaison des radicaux libres augmenteront et le rendement ionique baissera. Le rendement ionique (= le nombre de molécules détruites par paire d'ions) est, toutes autres conditions restant constantes, de 0,0074 pour une concentration $9 \cdot 10^{-8}$ M (= 3,29 μg par cm^3) de trypsine cristallisée, alors qu'il monte à 0,0376 si la concentration en enzyme est de $9{,}4 \cdot 10^{-6}$ M (344 μg par cm^3)[3]. Les récents travaux de Dale, Gray et Meredith[4] montrent que, en dessous de 200 μg par cm^3 de carboxypeptidase, le rendement ionique décroît, alors que, à forte concentration, ce rendement est assez constant (0,18 molécule d'enzyme inactivé par paire d'ions) (fig. 2). Des résultats semblables ont été publiés alors que le substrat était non pas un enzyme, mais l'acide oxalique, l'alcool méthylique, le glutathion, des virus ou l'alloxazine-adénine-dinucléotide.

2° Si, dans la solution aqueuse d'un enzyme sensible aux rayons X, on introduit un corps susceptible de réagir avec les radicaux libres, on doit observer une diminution de l'action des X. C'est l'effet de «protection», que Dale a mise en évidence dans nombre de cas: protection de la carboxydipeptidase par l'alloxane et surtout le formiate et la thiourée[1], protection de l'acétylcholine par le glucose[2]. Forrsberg[3] a retrouvé cet effet de protection en se servant de la catalase.

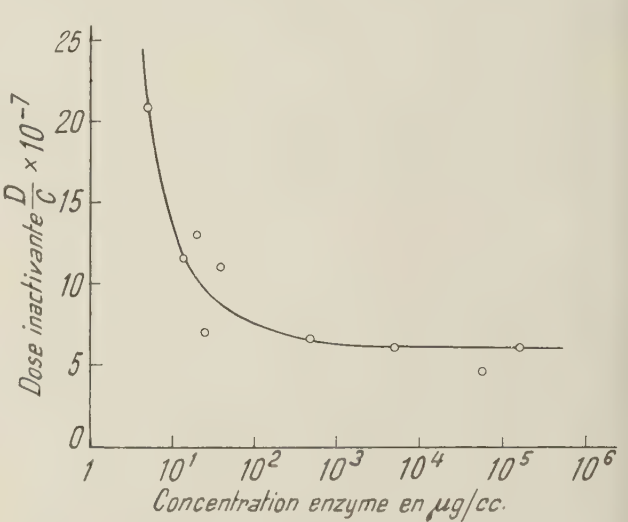


Fig. 2. – W.M. Dale, J.V. Davies et W.J. Meredith, Brit. J. Cancer *3*, 31 (1949). En abscisse, concentration de carboxypeptidase en g/ml. – En ordonnée, dose inactivante *spécifique*: $D/C \cdot 10^7$ où D représente la dose d'X nécessaire (exprimée en r) pour inactiver 63% de l'enzyme, et C la concentration initiale en enzyme.

Reste à savoir 1° quel est (ou quels sont) les radicaux libérés par les rayons X qui agissent sur la carboxypeptidase ou la trypsine et 2° quelles sont, dans la molécule de l'enzyme, les fonctions attaquées. Ces importantes questions sont à l'arrière-plan des travaux de Dale et de Kaufmann, et nous n'avons d'eux que le résultat suivant: les rayons X désaminent les acides aminés et les polypeptides et l'ammoniaque formé peut avoir une signification biologique[4].

Les recherches de Barron et collaborateurs[5] précisent quels sont les groupes actifs de certains enzymes qui réagissent avec les radicaux libres oxydants. L'activité de solutions diluées de trois enzymes à groupes –SH est inhibée par une irradiation modérée aux X (1 à 500 r); lorsque l'inhibition est partielle, l'enzyme peut être réactivé par addition de glutathion réduit; lorsque l'inhibition est plus poussée, la réactivation n'est que partielle. Ces observations (et d'autres

[1] T.C. Evans, Biol. Bull. *92*, 99 (1947).

[2] Z.M. Bacq, J. Lecomte et A. Herve, Arch. Internat. Physiol. *57*, 142 (1949); confirmé par S. Rossi.

[3] B.P. Kaufmann et coll., Ann. Rep. Depart. Genetics Carnegie Inst. Washington, no 48, 176 (1949).

[4] W.M. Dale, L.H. Gray et W.J. Meredith, Trans. Roy. Soc. London [A], *242*, 33 (1949).

[5] W.M. Dale, Biochem. J. *34*, 1367 (1940); Biochem. J. *36*, 80 (1942); Brit. J. Radiol. *16*, 171 (1943). – W.M. Dale, W.J. Meredith et M.C.K. Tweedie, Nature *151*, 280 (1943). – W.M. Dale, L.H. Gray et W.J. Meredith, Trans. Roy. Soc. London [A], *242*, 33 (1949).

[1] W.M. Dale, J.V. Davies et W.J. Meredith, Biochem. J. *40*, 33 (1946); Brit. J. Cancer *3*, 31 (1949).

[2] W.M. Dale, J. Physiol. *102*, 50 (1943).

[3] A. Forrsberg, Nature *159*, 308 (1947).

[4] W.M. Dale, J.V. Davies et C.W. Gilbert, Biochem. J. *45*, 93 (1949).

[5] E.S.G. Barron, S. Dickman, J.A. Muntz et T.P. Singer, J. Gen. Physiol. *32*, 537 (1949).

encore dont le détail est intéressant à suivre) sont interprétées comme le résultat de l'oxydation des groupes –SH de la molécule enzymatique par les radicaux OH, O_2H, H_2O_2 et l'oxygène atomique produits par l'irradiation de l'eau. L'inhibition irréversible des enzymes à –SH (et d'autres enzymes) observée après une forte irradiation (1000 à 5000 r) est attribuée, sans autre précision, à une dénaturation de la protéine. Ces conclusions de Barron et collaborateurs rentrent parfaitement dans le cadre de la conception des corps «thioloprives» que nous avons développée en 1946[1]. Les oxydants sont des substances thioloprives et reproduisent parfaitement l'action des rayons X ou du P 32 sur un muscle isolé de grenouille[2]: contracture et inexcitabilité *après travail*, phénomène caractéristique du blocage (en un point quelconque du cycle) du catabolisme glucidique[3].

La grosse difficulté qui se présente à l'heure actuelle est de savoir jusqu'à quel point on est en droit d'extrapoler à la cellule vivante les notions acquises en radiochimie et lors de l'étude des enzymes purs isolés en solution aqueuse. L'énorme travail histologique effectué par Bloom et collaborateurs[4] se termine par cet aveu révélateur: «We have not seen anything in our material which helps solve the problem of the mechanisms of actions of radiation on protoplasm[5]». Il y a un large fossé, que seule l'histochimie pourrait combler, entre les enzymes en place dans les cellules et les mêmes enzymes purifiés à l'extrême, dans l'eau distillée. Dans les cellules, les enzymes sont probablement localisés, concentrés sur certaines structures; ils sont en présence d'un milieu intracellulaire complexe, en perpétuel échange avec les milieux extracellulaires; il existe souvent dans les cellules des systèmes freinateurs, des protections multiples, hiérarchisées, qui font que certains corps très instables en solution aqueuse neutre sont stables à l'intérieur de certaines cellules, par exemple l'adrénaline stabilisée dans les surrénales des mammifères et les glandes parotoïdes des crapauds, par l'acide ascorbique et les porteurs de fonctions thiols. L'effet de protection étudié par Dale *in vitro* doit jouer *in vivo* de façon tout aussi nette.

En l'absence de données histochimiques précises, les expériences de physiologie ou de pharmacologie acquièrent un intérêt considérable, car elles utilisent le tissu ou l'animal tout entier vivant, et elles permettent de dire jusqu'à quel point les observations sur enzymes isolés peuvent s'appliquer aux organismes.

VIII. – *Protection des organismes contre le rayonnement X.* On retrouve dans la littérature biologique certains faits qui concordent avec les observations des physico-chimistes. Par exemple, Lacassagne[1] signale une chute de sensibilité aux rayons X chez la souris nouveau-née en état d'asphyxie; en général, la privation d'O_2 diminue la sensibilité aux rayons X des organismes, des tissus, des tumeurs. Les altérations chromosomiques chez *Vicia faba* sont moins nombreuses si l'on irradie cette graine aux rayons X en absence d'O_2[2]. On protège un bactériophage contre les X avec l'acide thioglycolique et divers acides aminés[3] comme on protège des virus d'animaux ou de végétaux. L'hyperglycémie diminue la radiosensibilité cutanée du lapin[4].

Si on laisse de côté, à cause de leur intérêt théorique fondamental moindre, les diminuations de mortalité aux rayons X obtenus par la désoxycorticostérone[5], l'acide ascorbique (non confirmé, voir[6]) l'atropine[7], les flavonoïdes (substances à action vitaminique P[8]), les antibiotiques[9], il reste trois importantes séries de recherches possédant une base biochimique intéressante.

a) Mole[10] a retrouvé *in vivo* chez le mammifère la protection contre les X assurée par la thiourée aux enzymes, mais l'analyse de ce fait n'est pas encore terminée.

b) Patt et collaborateurs[11] obtiennent des différences de survie impressionnantes (de l'ordre de 70%) en injectant, 15 à 60 minutes avant une irradiation totale du rat (800 r) ou de la souris (600 r), des doses importantes de cystéine ou de glutathion réduit. La cystine, la méthionine, l'acide ascorbique, le sulfure

[1] Z. M. Bacq, Exper. *2*, 349 et 385 (1946).

[2] Z. M. Bacq, J. Lecomte et A. Herve, Arch. Internat. Physiol. *57*, 142 (1949).

[3] J. Lecomte, M. Goffart et Z. M. Bacq, Arch. Internat. Physiol. *56*, 63 (1948). – Pour voir apparaître la lésion biochimique, il faut exciter le muscle, augmenter sa dépense énergétique. De même l'œuf d'oiseau irradié, *et non incubé*, ne montre pas d'altérations; ce n'est qu'au cours du développement, lorsqu'il y a consommation d'énergie, que celles-ci apparaissent. – S. Rossi, de l'Université de Tucuman (communication personnelle) a obtenu des résultats identiques aux nôtres et a observé après une faible dose de rayons X (50 à 75 r) une augmentation des réponses du muscle isolé de grenouille, à l'acétylcholine et au potassium.

[4] W. Bloom, *Histopathology of irradiation from external and internal sources* (MacGraw-Hill, New-York, 808 p. 1948).

[5] Signalons toutefois que les fonctions –SH disparaissent de la peau du cobaye après irradiation aux X (J. Frederic, Arch. Biol. *60*, 79 1949). On a aussi observé chez l'homme et le lapin que les rayons X diminuent la teneur en acide ascorbique du sang (C. H. Kretzschman et F. Ellis, Brit. J. Radiol. *20*, 94 1947), mais ce fait mériterait d'être confirmé.

[1] A. Lacassagne, C. r. Acad. Sci. Paris *215*, 231 (1942).

[2] J. M. Thoday et J. Read, Nature *160*, 608 (1947).

[3] R. Latarjet et E. Ephrati, C. r. Soc. Biol. *142*, 447 (1948).

[4] J. Loiseleur et F. Baclesse, C. r. Soc. Biol. *141*, 1160 (1947).

[5] F. Ellinger, Proc. Soc. Exper. Biol. Med. *64*, 31 (1947).

[6] H. M. Patt, D. E. Smith, E. B. Tyree et R. L. Straube, Proc. Soc. Exper. Biol. Med. *73*, 18 (1950).

[7] J. L. Larkin, Amer. J. Roentgenol. *62*, 547 (1949).

[8] W. G. Clarck, R. P. Uncapher et M. L. Jordan, Science *108*, 629 (1948). – J. B. Field et P. E. Rekers, Amer. J. Med. Sci. *218*, 1 (1949).

[9] C. P. Miller, C. W. Hammond et M. Thomkins, Science *111*, 719 (1950).

[10] R. H. Mole, Colloquium centen. de la découverte du radium, Paris, 19 juillet 1950.

[11] H. M. Patt, E. B. Tyree, R. L. Straube et D. E. Smith, Science *110*, 213 (1949). – H. M. Patt, D. E. Smith, E. B. Tyree et R. L. Straube, Proc. Soc. Exper. Biol. Med. *73*, 18 (1950).

de sodium sont sans action. En ingestion avant l'irradiation, le glutathion est inactif, la cystéine moins active. Injectés 5 minutes après l'irradiation, la cystéine et le glutathion sont totalement inefficaces. Ainsi donc, la réversibilité de l'inactivation des enzymes à groupes thiols observée par Barron et collaborateurs *in vitro* ne se retrouve pas *in vivo*, et il faudrait admettre que cette protection par les porteurs physiologiques d'–SH s'exerce non pas sur les enzymes à –SH, mais sur d'autres systèmes enzymatiques qui ne seraient pas dénaturés. Fischer et collaborateurs[1] ont d'ailleurs montré que la teneur en glutathion réduit du sang, du foie, du cœur, des reins et des muscles n'est pas modifiée de façon significative chez le cobaye et la souris immédiatement après une irradiation mortelle aux X.

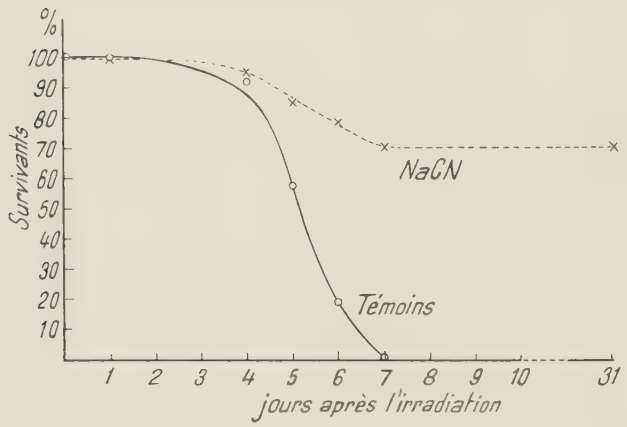


Fig. 3. – (Z. M. Bacq et A. Herve.) En abscisse, jours après irradiation (700 r). En ordonnée, % de souris survivantes. Protection par injection intrapéritonéale de 0,1 mg NaCN avant l'irradiation.

c) Herve et nous-même[2] (voir aussi [3]) avons opéré chez la souris dans des conditions plus strictes, en ce sens que tous nos témoins meurent quatre à dix jours après l'irradiation alors que dans les recherches de Patt et collaborateurs il y a toujours 10 à 20% de survie chez les témoins. Les résultats de nos premières recherches ont été déposés avant la sortie des publications de Patt et collaborateurs; il s'agit donc de travaux totalement indépendants. Deux inhibiteurs des systèmes catalasiques, peroxydasiques, cytochrome-oxydase: les cyanures[2] et les nitrures[4] (de Na ou de K), injectés immédiatement avant une irradiation mortelle chez toutes les souris témoins (700 r environ) donnent des survies impressionnantes: 75% en moyenne avec 0,1 mg de NaCN (fig. 3), 40% avec 0,2 mg de NaN_3. Nous confirmons l'action du glutathion réduit, dont l'effet s'ajoute à celui du cyanure: 90% de survie si l'on injecte 1 mg de glutathion et 0,1 mg de cyanure immédiatement avant l'irradiation de 700 r. Le fluorure de sodium, le sulfite de sodium, les arsénoxydes, le cyanate de Na sont inefficaces. Le B.A.L. (1 mg) prolonge l'existence des souris irradiées (poids 20 g), mais toutes meurent. L'α-tocophérol, l'antioxygène physiologique des lipides, ne diminue la mortalité chez les souris irradiées aux X que si l'on utilise une dose inférieure à 700 r, c'est-à-dire une dose qui ne donne pas 100% de mortalité. Le cyanure injecté 15 minutes après la fin de l'irradiation ne modifie en rien la courbe de mortalité; mais il prolonge de quelques jours la vie des animaux irradiés si on l'injecte *immédiatement après* l'irradiation qui dure 15 minutes. Le sulfocyanure de Na aggrave l'action des X (voir tableau).

Donc, c'est bien l'ion CN^- qui est responsable de l'effet de protection. La lésion biochimique fondamentale se constitue pendant l'irradiation; jusqu'à présent, on n'a pas encore réussi à la faire *régresser*. Les acides nucléiques sont, dans l'état actuel de nos connaissances, les seuls constituants cellulaires dont la formation soit considérablement ralentie chez la souris après une irradiation totale (950 r)[1].

Une interprétation biochimique précise de ces résultats n'est pas encore possible. Il se peut que la simple anoxie tissulaire soit le fait capital; il se peut que certains enzymes, la cytochrome-réductase par exemple[2], ou la catalase[3], inactivés *in vivo* par les rayons X, soient temporairement protégés contre les X par leur combinaison avec le cyanure, et rapidement réactivés par la transformation de CN^- en SCN^-. Qu'il s'agisse de glutathion ou de cyanure, la protection est limitée, en ce sens que si l'on augmente la dose d'X à 900 r, la survie avec le glutathion tombe à zéro, et à 25% avec le cyanure, et que contre 1 200 r le NaCN n'a plus aucun effet protecteur[4].

Ainsi donc, grâce aux progrès de la physico-chimie des radiations (grâce au concept de l'action *indirecte* des X), on assiste à la naissance d'une sorte de radiopharmacologie qui n'attend que le soutien de la biochimie et de l'histochimie pour progresser à grands pas.

Summary

Recent literature and the author's experiments favour strongly the general idea that the action of ultraviolet and X-rays on enzymes, cells, and organisms is not

[1] P. Fischer, J. Lecomte et L. de Landtsheer, C. r. Soc. Biol., sous presse.

[2] A. Herve et Z. M. Bacq, C. r. Soc. Biol. *143*, 881 et 1158 (1949).

[3] Z. M. Bacq, A. Herve, J. Lecomte et P. Fischer, Science *111*, 356 (1950).

[4] Z. M. Bacq, A. Herve et J. Lecomte, sous presse ou observations inédites, résumées dans le tableau I.

[1] G. Hevesy, Nature *164*, 269 (1949).

[2] L. Martin, C. r. Soc. Biol. *140*, 201 et 1245 (1946).

[3] R. N. Feinstein, C. L. Butler et D. D. Hendley, Science *111*, 149 (1950).

[4] J. Lecomte, A. Herve et Z. M. Bacq, C. r. Soc. Biol. *144*, 708 (1950) n'ont pas réussi à inhiber par le cyanure ou la cystéine la contracture de Lundsgaard provoquée par les rayons X sur le muscle de grenouille isolé.

Le cyanure de sodium (0,2 à 1%) en injection intradermique chez l'homme inhibe l'érythème consécutif à une irradiation aux ultra-violets: Ch. Fassotte et S. Lapière, C. r. Soc. Biol. *144*, 710 (1950).

Tableau

Essais de diverses substances en vue de protéger la souris contre une irradiation mortelle aux rayons X (A. Herve et Z. M. Bacq).

Préparation des animaux	Dose en r	Nombre de souris	Survie définitive en %	Observations
Contrôles	700	270	0	Toutes les souris sont mortes le 10e jour.
NaCN				
0,1 mg intrapéritonéal immédiatement avant rayons X	700	230	75	Effet protecteur très marqué.
2 min. après rayons X	700	40	0	Courbe décalée vers la droite.
30 min. après rayons X	700	30	0	Aucun effet.
immédiatement avant rayons X	900	40	25	
immédiatement avant rayons X	1200	40	0	
NaSCN				
0,5 mg intrapéritonéal immédiatement avant rayons X	700	30	0	
1 mg intrapéritonéal immédiatement avant rayons X	700	30	0	
NaOCN				
0,1 mg intrapéritonéal immédiatement avant rayons X	700	30	0	
NaN^3				
0,1 mg intrapéritonéal immédiatement avant rayons X	700	60	40	Effet protecteur marqué.
0,3 mg intrapéritonéal immédiatement avant rayons X	700	60	40	
Glutathion				
1 mg intrapéritonéal immédiatement avant rayons X	700	30	20	Effet protecteur faible, mais net.
2 mg intrapéritonéal immédiatement avant rayons X	700	20	50	
3 mg intrapéritonéal immédiatement avant rayons X	900	20	0	
NaCN 0,1 mg intrapéritonéal + Glutathion 1 mg intrapéritonéal immédiatement avant rayons X	700	40	90	Effet additif probable.
NaCN 0,1 mg intrapéritonéal + Glutathion 3 mg intrapéritonéal immédiatement avant rayons X	900	20	20	A dose plus considérable, l'effet additif ne semble plus se marquer.
Sulfite de Na				
5 mg intrapéritonéal immédiatement avant rayons X	860	20	0	
Arsenoxyde				
0,5 mg intrapéritonéal immédiatement avant rayons X	800	20	0	
0,2 mg intrapéritonéal immédiatement avant rayons X	700	20	0	
Fluorure de Na				
0,2 mg intrapéritonéal immédiatement avant rayons X	800	20	0	
B.A.L.				
1 mg intramusculaire 5 min. avant rayons X	700	30	0	Courbe de survie décalée vers la droite.
Arsénoxyde 0,1 mg intrapéritonéal immédiatement avant rayons X + B.A.L. 1 mg intramusculaire après rayons X	700	30	0	
α-Tocophérol				
10 mg intramusculaire quotidiennement 5 jours avant rayons X et 5 jours après rayons X	700	30	0	Quelques lots injectés de α-tocophérol et irradiés à plus faible dose (non mortelle pour 100% des témoins) ont montré un léger effet protecteur.

entirely a *direct* one, that chemical substances (peroxides in the case of U.V. rays, oxidizing short lived free radicals in the case of X-rays) resulting mainly from the action of rays on water molecules, are really the responsible agents. The greatest part of the action of U.V. or X-rays is *indirect*.

It is possible, by injection of cyanide, azide, cysteine, glutathione, thiourea, etc. to decrease very significantly the death rate of rats or mice irradiated with X-rays, but only if the substance is injected before irradiation; so far, the biochemical lesion of X-rays irradiation has been found irreversible.

La determinazione degli acidi chinurenico e xanturenico

Di Luigi Musajo e Dino Coppini[1], Modena

Ci occupiamo da tempo di questo argomento[2] e riportiamo in questa nota i risultati ai quali siamo recentemente pervenuti.

Per quanto l'acido chinurenico sia stato isolato da Liebig fin dal 1853 e poi sia stato notevolmente studiato, pure un metodo di determinazione di piccole quantità non è stato finora messo a punto. Si devono naturalmente ricordare i metodi di Hofmeister[3], Schmiedeberg e Schulzen[4], Jaffe[5], Capaldi[6] applicabili alle urine e fondati sulla defecazione con reattivi vari (acido fosfowolframico, acetato di piombo, alcole, cloruro di bario e ammoniaca), concentrazione del filtrato, acidificazione e pesata dell'acido chinurenico che si separa. Fra questi metodi, non applicabili peraltro a piccole quantità di sostanza, quello del Capaldi (defecazione con soluzione di cloruro di bario al 10% contenente il 5% di ammoniaca, concentrazione del filtrato, acidificazione e purificazione del precipitato ottenuto dopo lungo riposo, per soluzione in ammoniaca e riprecipitazione con acido cloridrico, quindi filtrazione e pesata) è stato tuttavia utilizzato da vari autori anche in tempi abbastanza recenti[7]. Non mancano però le critiche anche a tale metodo, e la necessità di disporre di un procedimento migliore viene nettamente indicata da ricercatori che si sono occupati dell'argomento; ricordiamo fra questi Jackson[8] che ha studiato l'eliminazione dell'acido chinurenico in specie differenti scelte in differenti famiglie di carnivori ospiti del Giardino Zoologico di New York.

A questo si aggiunga che il procedimento può portare a pesare insieme acido chinurenico e acido xanturenico, se quest'ultimo è presente, come accade in alcuni casi. Questa circostanza a noi nota non è stata considerata dai ricercatori che si sono occupati dell'acido chinurenico. Ne consegue che molti dati riguardanti tale acido andranno riesaminati da questo punto di vista e che per condurre indagini precise bisognerà poter determinare separatamente le due sostanze.

È noto che queste: l'acido chinurenico o acido 4-ossichinolin-2-carbonico e l'acido xanturenico o acido 4-8-diossichinolin-2-carbonico scoperto più di recente[1] si formano entrambe *in vivo* dal triptofano[2].

Chinurenina e 3-ossichinurenina[3] sono termini intermedi. È anche noto che la importanza biologica di questi due derivati chinolinici ha dato luogo ad una larga serie di lavori, in diversi indirizzi, dall'esame dei quali risulta evidente l'interesse di disporre di metodi di determinazione sensibili.

Per l'acido xanturenico è stata utilizzata la colorazione verde che si ottiene (in condizioni diverse) con i sali ferrosi e con i sali ferrici. Noi ci siamo spesso serviti del solfato ferroso per ricerche quantitative, ma non abbiamo pubblicato lavori in proposito. Miller e Baumann[4] hanno invece utilizzato il cloruro ferrico in soluzione etilalcolica ed hanno descritto un procedimento che, applicato all'urina, si può così riassumere: l'urina diluita (p_H 2,5) addizionata di cloruro sodico, viene agitata meccanicamente con una miscela di etere etilico e alcole etilico (15:1). Il residuo dell'estratto etereo-alcolico disciolto in alcole etilico assoluto e la soluzione addizionata di 1 cm³ di soluzione di cloruro ferrico al 5% pure in alcole etilico assoluto. La colorazione verde ottenuta viene quindi valutata con i metodi noti.

Se però la concentrazione dell'acido xanturenico sorpassa i 50 γ per cm³ di urina l'estrazione deve essere ripetuta tante volte finchè i vari estratti esaminati separatamente non ne dimostrino la completa estrazione.

Porter, Clark e Silber[5] estraggono invece l'acido xanturenico con alcole isoamilico, diluiscono l'estratto con alcole etilico e aggiungono 0,2 cm³ di soluzione di cloruro ferrico al 5% in alcole assoluto.

Ma nonostante questi metodi il problema non è risolto perchè permane sempre la difficoltà della ricerca e determinazione dell'acido chinurenico. La separazione dei due acidi ossichinolin-carbonici non è facile: allorchè si è trattato di ottenerli allo stato puro da urine nelle quali erano entrambi contenuti, sono state necessarie molte laboriose cristallizzazioni dei prodotti grezzi[6] oppure si è dovuto ricorrere alla sublima-

[1] Istituto di Chimica Farmaceutica dell'Università di Modena.

[2] Vedi L. Musajo e D. Coppini, Atti Soc. Nat. e Mat. Modena *78*, 113 (1947). – L. Musajo, D. Coppini e M. Mancini, *idem*, *79*, 70 (1948). – L. Musajo, comunicaz. alla Sez. Emiliana della Soc. Chim. Ital. (Bologna) il 4 aprile 1948, Chimica Industria *30*, 308 (1948).

[3] Z. physiol. Chem. *5*, 67 (1881).

[4] Ann. Chem., *164*, 155 (1872).

[5] Vedi A. Josephsohn, Inaug. Dissertation, Königsberg, 1898.

[6] Z. physiol. Chem. *23*, 92 (1897).

[7] Vedi ad esempio St. Correl, C. P. Berg e D. W. Cowan, J. Biol. Chem. *123*, 151 (1938).

[8] R. W. Jackson, J. Biol. Chem. *131*, 469 (1939)

[1] L. Musajo, Gazz. Chim. Ital. *67*, 166 (1937). – L. Musajo e M. Minchilli, Ber. Dtsch. chem. Ges. *74*, 1840 (1941).

[2] Vedi per l'acido xanturenico L. Musajo e F. M. Chiancone, Gazz. Chim. Ital. *67*, 218 (1937).

[3] Vedi A. Butenandt, W. Weidel e H. Schlossberger, Z. Naturforschung, *4b*, 242 (1949); L. Musajo, A. Spada e E. Casini, Gazz. Chim. Ital., *80*, 171 (1950).

[4] E. C. Miller e C. A. Baumann, J. Biol. Chem. *157*, 553 (1945).

[5] C. C. Porter, J. Clark e R. H. Silber, J. Biol. Chem. *167*, 575 (1947).

[6] L. Musajo, Gazz. Chim. Ital. *67*, 180 (1937).

zione degli esteri metilici nel vuoto spinto, procedimenti che non si prestano per applicazioni quantitative.

Esiste però un comportamento differenziale rispetto ad alcuni reattivi e in alcune reazioni e di questo ci siamo serviti per elaborare il nostro metodo. Ricordiamo i dati più importanti:

1° L'*acido xanturenico* dà soluzioni alcaline gialle, con cloruro ferrico in soluzione alcolica colorazione verde, con solfato ferroso la soluzione acquosa del sale monosodico (leggermente gialla) dà debole colorazione verde, mentre la soluzione del sale disodico (fortemente gialla) dà colorazione verde intensissima[1]. Con acido diazobenzolsolfonico alcalino colorazione rossa intensa.

2° L'*acido chinurenico* dà soluzioni alcaline incolori, e non fornisce colorazione con cloruro ferrico, solfato ferroso e con acido diazobenzolsolfonico. Viceversa dà la così detta reazione di JAFFE[2] che secondo JACKSON[3] può essere così condotta: alla sostanza (anche in quantità molto piccola fino a 0,02 mg) contenuta in una capsulina di porcellana si aggiungono 3 goccie di soluzione satura di clorato di potassio e 5 goccie di acido cloridrico concentrato; si evapora a secchezza su bagno d'acqua e si lascia raffreddare.

Successivamente 2–3 goccie di ammoniaca concentrata vengono addizionate con precauzione: ai bordi del residuo compare una colorazione verde. L'acido xanturenico nelle stesse condizioni dà una tinta bruna, ma non si riesce a scorgere colorazione verde.

KRETSCHY inoltre nel 1881 osservava[4] che scaldando l'acido chinurenico con anidride acetica a 140°, esso, dapprima bianco, si colora poi in rosso sangue, quindi in violetto. Agli orli del liquido si notano strie azzurre ed infine il liquido assume colorazione rosso porpora. Solo piccole quantità di una sostanza colorante azzurro indaco venivano però isolate accanto a molto acido chinurenico. Nel 1884 BESTHORN e JAEGLE[5] notavano che un comportamento analogo era presentato da altri acidi chinolin-α-carbonici e nel 1904 BESTHORN e IBELE[6] occupandosi della reazione fra anidride acetica e acido chinaldinico iniziano lo studio di quella che essi chiamarono «una nuova classe di sostanze coloranti dagli acidi chinolin-α-carbonici».

Senza addentrarci nell'esame particolareggiato di questo e dei successivi lavori su tale argomento ricorderemo che l'acido chinaldinico per azione dell'anidride acetica a 140° per mezz'ora, elimina anidride carbonica e dà luogo alla formazione di una sostanza colorante rossa $C_{19}H_{12}N_2O$, ottenuta da due molecole di acido chinaldinico con eliminazione di una molecola di anidride carbonica ed una di acqua. Per riscaldamento con acido bromidrico si ottiene dal colorante chinolina ed acido chinaldinico. Le soluzioni che presentano fluorescenza, in benzolo fluorescenza rossa, sono straordinariamente sensibili alla luce; un'esposizione di pochi minuti alla luce solare è sufficiente per scolorarle completamente.

La stessa sostanza colorante si può ottenere con anidride benzoica (ma non con anidride ftalica, nè con anidride succinica) ed anche per azione del cloruro dell'acido chinaldinico sulla chinolina in soluzione benzenica[1]. Altre sostanze coloranti di questo tipo sono state poi descritte da BESTHORN[2], il quale stabilì anche che la decolorazione delle soluzioni per azione della luce avviene soltanto in presenza d'aria.

Anche l'acido chinurenico come è già stato detto fornisce con anidride acetica una sostanza colorante simile, ma molto più lentamente che non l'acido chinaldinico[3] ed anche in questo caso le soluzioni presentano fluorescenza rossa ed alla luce divengono incolore.

*

Ciò premesso riportiamo le esperienze che abbiamo condotte per trovare i procedimenti analitici più adatti.

Acido xanturenico

La colorazione verde che si ottiene con i sali ferrosi in soluzione di bicarbonato sodico è preferibile a scopo quantitativo per la indubbia maggiore specificità che essa presenta su quella ottenuta con cloruro ferrico in soluzione etilalcolica (od etil-isoamilalcolica)[4] ed anche su quella che si può ottenere con acido diazobenzolsolfonico. Noi operiamo nella maniera seguente: a mg 0,1–3 di acido xanturenico esattamente pesati contenuti in palloncino tarato da 10 cm^3 si aggiungono 6–7 cm^3 di soluzione acquosa di bicarbonato sodico all'1% e dopo soluzione 0,4 cm^3 di soluzione all'1% di sale di Mohr. Si porta a volume con soluzione di bicarbonato sodico e dopo agitazione e riposo di 5 minuti si filtra per doppio filtro. Nell'intervallo sperimentato la legge di BEER è risultata applicabile ed usando il fotometro di PULFRICH, filtro S 61 (liquido di confronto: acqua) il logaritmo negativo della trasparenza, spessore 1 cm, moltiplicato per 0,95 (essendo 1/0,95 la pendenza del diagramma di taratura) dà l'acido xanturenico in milligrammi, contenuto nei 10 cm^3 di soluzione esaminata.

La presenza di acido chinurenico, il quale come si è detto non dà colorazione con i sali ferrosi o con i sali ferrici, non disturba.

[1] L. MUSAJO, Gazz. Chim. Ital. *67*, 174 (1937).
[2] M. JAFFÉ, Z. physiol. Chem. *7*, 299 (1883).
[3] R. W. JACKSON, J. Biol. Chem. *131*, 469 (1939).
[4] Monatsh. Chem., *2*, 76 (1881).
[5] Ber. Dtsch. chem. Ges. *27*, 913 (1894).
[6] Ber. Dtsch. chem. Ges. *37*, 1236 (1904).

[1] Ber. Dtsch. chem. Ges. *38*, 2127 (1905).
[2] Ber. Dtsch. chem. Ges. *46*, 2762 (1913).
[3] Ber. Dtsch. chem. Ges. *54*, 1333 (1921).
[4] E. C. MILLER e C. A. BAUMANN, J. Biol. Chem. *157*, 553 (1945). – C. C. PORTER, J. CLARK e R. H. SILBER, J. Biol. Chem. *167*, 575 (1947).

Acido chinurenico

Sono state studiate le reazioni con anidride acetica, con cloruro di tionile e chinolina, con anidride benzoica, nei modi cioè indicati nei lavori più sopra ricordati[1]. Queste vie portano alla formazione di una sostanza colorante, ma i risultati migliori sono stati ottenuti con pentacloruro di fosforo, ossicloruro di fosforo e chinolina:

Riferiamo brevemente sui vari procedimenti sperimentati:

1° *Procedimento A. Con anidride acetica.* Pochi milligrammi (1–2) di acido chinurenico vengono riscaldati a ricadere con cm^3 1 di anidride acetica su una piccola fiamma.

Le varie prove sono state fatte riscaldando per 10, 20 e 30 minuti, ma in ogni caso si sono notate particelle bianche di sostanza inalterata. Con benzolo si ha colorazione rosso-viola (fluorescenza rossa), ma la lettura al fotometro non è stata possibile perchè la colorazione scompare per azione della luce con una rapidità eccezionale. Anche impiegando altri solventi in luogo del benzolo (cloroformio, tetracloruro di carbonio, metanolo) ed accorgimenti per evitare il contatto con aria, non è stato possibile praticamente eseguire determinazioni.

La reazione con anidride acetica presenta due inconvenienti non facilmente superabili: rendere costante il decorso della reazione stessa; stabilizzare la colorazione. Per queste ragioni non è stata ulteriormente studiata.

2° *Procedimento B. Con cloruro di tionile e chinolina.* Besthorn e Ibele[2], come abbiamo già detto, hanno messo in evidenza che la stessa sostanza colorante che si ottiene da acido chinaldinico e anidride acetica può essere ottenuta dal cloruro dell'acido chinaldinico (preparato con cloruro di tionile) e chinolina in benzolo.

Noi abbiamo studiato anche questo metodo con l'acido chinurenico e operato nel modo seguente: 1–2 mg di acido chinurenico vengono riscaldati a ricadere per 30 minuti con 1–2 cm^3 di cloruro di tionile, il quale viene successivamente allontanato a pressione ridotta ed il residuo tenuto tre ore in essiccatore nel vuoto su acido solforico e potassa caustica. Dopo tale tempo si aggiungono 2 goccie di chinolina e 2–3 cm^3 di benzolo. Si nota colorazione rossa già a freddo. Si riscalda a ricadere, per 10 minuti (colorazione rosso-viola), si lascia raffreddare e si porta a volume (10 cm^3) con benzolo. Anche in questa esperienza abbiamo notato rapida decolorazione della soluzione benzenica. Impiegando invece del benzolo il metanolo la soluzione risulta più stabile tanto da permettere la lettura fotometrica, ma i risultati sono variabili ed anche in condizioni identiche non si ottengono dati concordanti.

3° *Procedimento C. Con anidride benzoica.* L'impiego dell'anidride benzoica conduce a buoni risultati. Dopo varie prove abbiamo trovato che le condizioni migliori sono le seguenti: all'acido chinurenico (0,5–2 mg) contenuto in un piccolo palloncino si aggiungono mg 50 di anidride benzoica e 2–4 goccie di piridina purissima come solvente (la reazione avviene anche in assenza di piridina ma più stentatamente). Il palloncino viene immerso in un bagno d'olio di vaselina riscaldato a 160° e tenuto a questa temperatura per 4 minuti (un riscaldamento più lungo è da evitare) agitando dolcemente. Operando con precauzione si riesce a portare tutta la sostanza in soluzione. Il residuo color viola viene, dopo raffreddamento, ripreso con benzolo e portato a volume (10 cm^3) e sulla soluzione rosso-viola viene eseguita la lettura al fotometro.

La stabilità della colorazione è discreta e la presenza di piccole quantità di acido xanturenico, che non dà questa reazione, non disturbano notevolmente.

Tuttavia questo metodo è risultato utilizzabile solo con campioni di acido chinurenico relativamente puro. Allorchè si è cercato di trasportarlo a determinazioni nelle urine incontrammo difficoltà tali da doverlo abbandonare.

4° *Procedimento D. Con pentacloruro di fosforo e chinolina.* Per azione del pentacloruro di fosforo sull'acido chinurenico e reazione del prodotto ottenuto con chinolina siamo riusciti a preparare una sostanza colorante rossa con soluzioni notevolmente stabili.

Il procedimento è stato applicato a piccole quantità di acido chinurenico nel modo seguente:

Ad 1–2 mg di questa sostanza contenuti in un palloncino da 25 cm^3 con raccordo smerigliato si aggiungono 50 mg di pentacloruro e 10 cm^3 di benzolo secco. Dopo ebollizione a ricadere per un ora il benzolo è stato distillato completamente ed il residuo addizionato di 10 cm^3 di etere anidro e di 0,1 cm^3 di chinolina. Si fa ancora bollire a ricadere per 30 minuti. L'etere viene decantato e sostituito con altri 10 cm^3 di etere anidro. Dopo nuova ebollizione per 10 minuti l'etere viene ancora decantato ed il residuo rosso-viola[1] sciolto in alcole etilico di 95°.

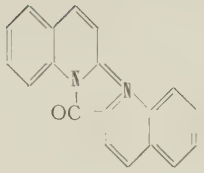
[1] Monatsh. Chem. *2*, 76 (1881). – Ber. Dtsch. chem. Ges. *27*, 913 (1894). – Ber. Dtsch. chem. Ges. *38*, 2127 (1905).

[2] Ber. Dtsch. chem. Ges. *37*, 1236 (1904).

[1] Il colorante ottenuto con pentacloruro di fosforo e chinolina è insolubile in acqua, solubile in acido acetico con colorazione rossa, un po' meno in alcole etilico e alcole metilico, abbastanza solubile in cloroformio e diossano con intensa fluorescenza rosso-viola.

Le soluzioni in alcole etilico o diossano si decolorano più rapidamente delle altre alla luce solare. Non è di facile cristallizzazione.

Questa sostanza verrà studiata in seguito, ma riteniamo, in base alle prime analisi, probabile la formula $C_{19}H_{11}O_2N_2Cl$ e consideriamo la sostanza stessa come appartenente al gruppo dei coloranti chinolinici sensibili alla luce, di Besthorn e Ibele, i quali vengono riferiti a costituzione del tipo (vedi anche Wieland, Ber. Dtsch. chem. Ges. *61*, 2371 (1928) e Ann. Chem. *530*, 34 (1937).



I risultati sono stati dal punto di vista quantitativo discreti, ma non in maniera costante. Abbiamo notato che in questo procedimento, un po' troppo laborioso, restano delle piccole particelle di acido chinurenico inattaccato. Abbiamo perciò ritenuto di dover migliorare ancora il metodo e siamo perciò passati al:

5° *Procedimento E. Con pentacloruro di fosforo, ossicloruro di fosforo e chinolina.* In un palloncino da 25 cm³ munito di smerigliatura ed allunga, perfettamente secchi, si introduce l'acido chinurenico, da 0,1 a 4 mg e successivamente 50 mg di pentacloruro di fosforo pesato in piccolo bicchierino e 1 cm³ di ossicloruro di fosforo. Si scalda all'ebollizione su dischetto di amianto mediante una microfiamma per 15 minuti e si aggiungono dopo raffreddamento 0,1 cm³ di chinolina purissima (distillata su idrato potassico): si ha formazione di un precipitato bruno scuro. A questo punto si può distillare l'ossicloruro di fosforo nel vuoto e sciogliere il residuo in alcole etilico di 95° il quale assume una bellissima colorazione rosso-viola. Ma abbiamo notato che la distillazione dell'ossicloruro conduce a delle perdite, per cui abbiamo preferito aggiungere direttamente l'alcole. La reazione è vivace, ma operando con precauzione, sotto cappa, e aggiungendo l'alcole goccia a goccia i risultati sono buoni. La stabilità della soluzione così ottenuta, a differenza degli altri procedimenti, è notevolissima; soluzioni alcoliche di colorante (da acido chinurenico 0,04 mg/cm³) si decolorano solo dopo esposizione di un'ora alla luce solare.

È necessario adoperare, come è stato detto, apparecchiatura perfettamente secca e reattivi molto puri.

Operando con le quantità ricordate di acido chinurenico cioè comprese fra 0,1 e 4 mg, seguendo le condizioni di esperienza sopra descritte, ed infine diluendo dopo i 15 minuti di ebollizione con alcole di 95° al volume di 25 cm³, si ottengono soluzioni che seguono la legge di Beer. Con il fotometro di Pulfrich, adoperando per ragioni di sensibilità il filtro S 47 (liquido di confronto: le stesse quantità dei vari reattivi, pentacloruro, ossicloruro, poi chinolina e alcole, naturalmente acido chinurenico escluso) il logaritmo negativo della trasparenza per 1 cm di spessore moltiplicato per 0,68 dà i milligrammi di acido chinurenico contenuto nei 25 cm³ di soluzione. I risultati sono buoni.

Le soluzioni alcoliche così ottenute, opportunamente diluite, presentano sempre un massimo di assorbimento ben evidente a 556–557 mμ (spettrofotometro Beckmann, mod. D.U.).

La determinazione degli acidi chinurenico e xanturenico contemporaneamente presenti

È già stato detto come la determinazione dell'acido xanturenico mediante i sali ferrosi possa essere condotta anche in presenza di acido chinurenico, quindi questa parte del problema non presenta difficoltà. Nelle reazioni cromatiche dell'acido chinurenico la presenza dell'acido xanturenico può essere invece causa di interferenza.

In quella con pentacloruro, ossicloruro di fosforo e chinolina (procedimento E), l'acido xanturenico, anche quello purissimo di sintesi, dà una debole colorazione rosea. Se l'ebollizione con pentacloruro ed ossicloruro viene prolungata oltre i 15 minuti (per una ora ad esempio) la colorazione aumenta di intensità. Non va dimenticato che anche l'acido xanturenico è un acido chinolin-α-carbonico e che con ossicloruro si trasforma in acido 4-cloro-8-ossichinolin-2-carbonico[1] e per quanto reagisca stentatamente, non si può quindi escludere la formazione di un colorante del tipo di quelli di Besthorn. Anche questo fatto potrà essere motivo di studio quando questi coloranti saranno esaminati più da vicino.

L'inconveniente analitico sopra citato è stato però anche esso superato tenendo presente il diverso comportamento dei due acidi ossichinolincarbonici rispetto al permanganato. Mentre l'acido chinurenico viene solo lentamente ossidato dal permanganato ad acido chinurico od ossalil-antranilico, l'ossidazione dell'acido xanturenico procede molto rapidamente e profondamente e non conduce a composti caratteristici. Limitando la durata dell'ossidazione a pochi minuti l'acido xanturenico viene distrutto e l'acido chinurenico rimane inattaccato.

In base ai dati fin qui esposti, abbiamo elaborato il metodo di determinazione dei due acidi ossichinolincarbonici in presenza l'uno dell'altro, basato 1° sulla estrazione dei due acidi stessi con alcole isoamilico, 2° sulla colorazione che i sali ferrosi danno con acido xanturenico, 3° sulla distruzione di questo con permanganato, 4° sulla reazione dell'acido chinurenico con pentacloruro, ossicloruro di fosforo e chinolina.

I. *Determinazione su prodotti puri*

Piccole quantità pesate di acido chinurenico e acido xanturenico puri di sintesi vengono introdotti in un palloncino tarato da 20 cm³, si aggiunge soluzione all'1% di bicarbonato sodico ed in tal modo i due acidi si sciolgono facilmente. Si porta a volume con lo stesso bicarbonato e dalla soluzione ottenuta (soluzione A) si prelevano 8 cm³ che si introducono in un palloncino tarato da 10 cm³, si aggiungono 0,4 cm³ di soluzione al

[1] L. Musajo, Gazz. Chim. Ital. *67*, 166 (1937). – L. Musajo e M. Minchilli, Ber. Dtsch. chem. Ges. *74*, 1840 (1941).

1% di $FeSO_4 \cdot (NH_4)_2SO_4 \cdot 6H_2O$, si porta a volume di 10 cm³ con la stessa soluzione di bicarbonato sodico all'1%, si agita, si lascia in riposo per cinque minuti e se la soluzione colorata in verde non risulta perfettamente limpida si filtra per doppio filtro e si esegue la lettura fotometrica secondo quanto è stato detto prima (fotometro di PULFRICH, filtro S 61).

Per l'acido chinurenico si prelevano 10 cm³ della soluzione in bicarbonato (soluzione A) si portano in un tubo da centrifuga (3,5 × 10 cm) e si aggiungono successivamente 1 cm³ di idrato sodico $N/1$ e 5 cm³ di permanganato potassico $N/10$. Si agita dolcemente il tubo e si lascia in riposo esattamente per cinque minuti, trascorsi i quali mediante una piccola quantità di bisolfito sodico (solido) si riduce l'eccesso di permanganato. Si introduce per pochi istanti il tubo in b. m. tiepido e dopo si centrifuga il biossido di manganese. Il liquido limpido si travasa in un altro tubo da centrifuga uguale al precedente e il residuo si lava con 3–4 cm³ di acqua, che dopo centrifugazione viene unita al liquido precedente. Si porta ora a p_H 2 (indicatore esterno) con acido cloridrico 2 N aggiunto goccia a goccia e si aggiungono 10 cm³ di alcole isoamilico (prima lavato con idrato sodico $N/1$, acido cloridrico $N/1$, acqua e quindi distillato). Si agita meccanicamente per dieci minuti e si travasa in imbuto separatore. La estrazione amilica viene ripetuta altre due volte con 5 cm³ di alcole isoamilico e per cinque minuti per volta.

L'estratto amilico seccato con solfato sodico anidro viene filtrato attraverso cotone in un palloncino a collo smerigliato da 25 cm³, al quale si innesta un refrigerante a raccordo per distillazione. La distillazione viene effettuata (bagno di olio di vaselina) nel vuoto e in due tempi (o più se fosse necessario). Si distillano dapprima circa i $^2/_3$ dell'estratto (9–10 cm³) e poi la seconda porzione dell'estratto più l'alcole amilico impiegato per lavare l'imbuto. Il palloncino nel quale è contenuto l'acido chinurenico viene seccato per 45 minuti a 105° in stufa e successivamente si introducono in esso 50 mg di pentacloruro di fosforo e 1 cm³ di ossicloruro di fosforo, si innesta una allunga (accuratamente seccata) con smerigliatura corrispondente e si fa bollire a ricadere su un dischetto di amianto con microfiamma per quindici minuti. Dopo raffreddamento si aggiungono 0,1 cm³ di chinolina (pura) distillata su potassa caustica e quindi dopo raffreddamento, con grande precauzione sotto cappa, alcole etilico di 95° goccia a goccia. Quando si sono introdotti 6–7 cm³ di alcole la soluzione rosso-viola viene travasata quantitativamente in palloncino tarato da 25 cm³ portando a volume con alcole. Si esegue quindi la lettura tenendo presente i dati riportati a proposito del procedimento E. Non occorre prendere eccessive precauzioni per la luce, ma è bene evitare dopo la formazione del colorante l'esposizione alla luce solare diretta.

Analisi n°		pesato mg	trovato mg
1	acido chinurenico	1,944	1,840
	acido xanturenico	1,921	1,862
2	acido chinurenico	1,461	1,384
	acido xanturenico	2,499	2,409
3	acido chinurenico	2,148	2,086
	acido xanturenico	1,414	1,382
4	acido chinurenico	2,758	2,656
	acido xanturenico	2,783	2,690

Risultati ancora netti si hanno quando la soluzione A contiene circa 10 γ/cm³ di ciascuno dei due acidi.

II. *Applicazione ad alcuni prodotti naturali*

I prodotti naturali esaminati sono stati i miscugli grezzi degli acidi ossichinolincarbonici isolati da urine di animali sottoposti a diete iperproteiche o a carichi di triptofano o a somministrazione di l-chinurenina.

1° *Campione proveniente da urine di ratti a dieta iperproteica* (fibrina). Prodotto grezzo ottenuto da urine defecate con barite, l'eccesso di questa allontanato con anidride carbonica, quindi concentrazione e acidificazione.

Analisi: sostanza (secca) 3,819 mg.
acido chinurenico trovato 0,544 mg 14,24%
acido xanturenico trovato 2,906 mg 76,11%

È noto infatti che in queste condizioni i ratti eliminano prevalentemente acido xanturenico.

2° *Campione proveniente da urine di coniglio a dieta di fibrina e dopo carico di triptofano* (3 iniezioni di 2,5 g di triptofano a distanza di 48 ore l'una dall'altra).

Prodotto grezzo ottenuto dopo semplice acidificazione delle urine.

Analisi: sostanza (secca) 3,842 mg.
acido chinurenico trovato 3,168 mg 82,45%
acido xanturenico trovato 0,252 mg 16,55%

3° *Campione proveniente da urine di ratti ai quali era stato somministrato solfato di l-chinurenina.*

Prodotto grezzo ottenuto per acidificazione delle urine.

Analisi: sostanza (secca) 4,366 mg.
acido chinurenico trovato 3,318 mg 76,00%
acido xanturenico trovato 0,499 mg 11,43%

A differenza degli animali tenuti a dieta iperproteica, gli animali trattati con triptofano e con chinurenina eliminano prevalentemente acido chinurenico.

III. *Determinazione nelle urine*

Questa determinazione è stata dapprima eseguita, per quanto riguarda l'acido chinurenico, con la reazione pentacloruro di fosforo-chinolina[1] cioè col proce-

[1] Vedi L. MUSAJO e D. COPPINI, Atti Soc. Nat. e Mat. Modena *78*, 113 (1947). – L. MUSAJO, D. COPPINI e M. MANCINI, *idem*, *79*, 70 (1948). – L. MUSAJO, comunicaz. alla Sez. Emiliana della Soc. Chim. Ital. (Bologna) il 4 aprile 1948, Chimica Industria *30*, 308 (1948).

dimento D. Dalle molte analisi eseguite ci convincemmo della necessità di migliorare le condizioni. Fu così che arrivammo alla reazione pentacloruro-ossicloruro di fosforo-chinolina (prodecimento E) sulla quale è basata la seguente applicazione alle urine.

Da 3 a 5 cm^3 di urine esattamente misurati, vengono portati in tubo da centrifuga e diluiti con 10 cm^3 di acqua. Con qualche goccia di acido cloridrico 2 *N* si porta il p_H ad 1,5–2, si aggiungono 10 cm^3 di alcole isoamilico (purificato), si introduce nel tubo un agitatore di vetro, si agita per dieci minuti. Si travasa in imbuto a rubinetto ed il liquido acquoso si estrae ancora due volte con 5 cm^3 di alcole isoamilico (cinque minuti) per volta. Gli estratti amilici riuniti, più ancora un po' di alcole isoamilico di lavaggio del tubo e dell'imbuto, vengono trasportati in un altro tubo da centrifuga ed agitati per tre volte meccanicamente con 5 cm^3 per volta di soluzione di bicarbonato sodico all'1% (dieci minuti di agitazione per la prima estrazione, cinque minuti per le altre due). La soluzione acquosa in bicarbonato sodico che viene dopo ogni estrazione separata in imbuto a rubinetto viene raccolta in un palloncino tarato da 20 cm^3 nel quale vengono ancora raccolte le piccole quantità di liquido di lavaggio, sempre bicarbonato sodico all'1%, con il quale, anche, si porta a volume. La soluzione così ottenuta corrisponde alla soluzione A indicata precedentemente a proposito di «Determinazione su prodotti puri» e le operazioni successive sono perfettamente corrispondenti, cioè su una parte della soluzione (8 cm^3) si determina l'acido xanturenico e su di un'altra parte (10 cm^3) l'acido chinurenico così come è stato detto precedentemente. Occorre notare che se le urine contengono quantità molto forti di acidi chinurenico e xanturenico, l'estrazione amilica deve essere ripetuta varie volte; 5 mg complessivamente dei due acidi vengono certamente estratti col procedimento indicato.

Anche per quanto riguarda le urine la sensibilità è dell'ordine che abbiamo già avuto occasione di indicare. La determinazione è ancora possibile quando nel volume di urina preso per l'analisi sono contenuti 200 γ rispettivamente di ciascuno dei due acidi ossichinolincarbonici.

Riportiamo alcune analisi eseguite su urine alle quali erano state aggiunte quantità note dei due acidi:

Analisi n°		pesato mg	trovato mg
1	acido chinurenico	2,080	1,994
	acido xanturenico	1,962	1,898
2	acido chinurenico	2,892	2,771
	acido xanturenico	3,002	2,894
3	acido chinurenico	1,504	1,514
	acido xanturenico	1,498	1,469

Due determinazioni eseguite su un campione di urine di ratti a dieta di fibrina ci hanno dato i risultati seguenti:

	I	II
acido chinurenico in 100 cm^3 di urina	66,64 mg	63,10 mg
acido xanturenico in 100 cm^3 di urina	152,12 mg	158,60 mg

Questo metodo presenta una certa laboriosità ed i risultati in genere sono un po' bassi. Riteniamo tuttavia che esso rappresenti un utile mezzo di ricerca e di studio quando si presenti la necessità di sperimentare sull'eliminazione dei due acidi ossichinolincarbonici.

Ringraziamo vivamente il Dott. MARIO MANCINI, la Sig.na Dott. FRANCA FIOCCA e gli altri studenti che hanno volonterosamente collaborato allo svolgimento di queste lunghe ricerche.

Summary

Although kynurenic acid (4-hydroxyquinoline-2-carboxylic acid) was isolated by LIEBIG in 1853, a method for the determination of small quantities of it has not been brought to perfection. Macromethods based on precipitation and weighing are known, but they do not give any guarantee about specificity and precision and can lead to the mistake of determining simultaneously with kynurenic acid also xanthurenic acid (4,8-dihydroxyquinoline-2-carboxylic acid), which has been more recently discovered by MUSAJO.

From this stand point many numerical results concerning kynurenic acid must necessarily be re-examined.

Our analytical procedure has been perfected after many attempts and is based on the transformation of kynurenic acid into a substance of the type of the quinolinic dyes of BESTHORN but more stable towards the light.

By chlorinating the kynurenic acid with phosphorus pentachloride and phosphorus oxychloride and by successive action of quinoline on the reaction product, we were able to obtain a colored substance which upon solution in ethanol has a beautiful red-violet color (maximum of absorption 556–557 μ) of remarkable stability with regard to light.

The xanthurenic acid is determined through the green coloration obtained by adding small quantities of ferrous salt to its solution in sodium bicarbonate. If the two acids are simultaneously present, the determination of xanthurenic acid is not influenced by the presence of kynurenic acid; on the other hand the presence of xanthurenic acid can interfere with the determination of kynurenic acid. To avoid such interference a short and cautious oxydation with potassium permanganate is necessary, which destroys only the xanthurenic acid.

After oxydation, the unchanged kynurenic acid is extracted ($p_H = 2$) with isoamyl alcohol and consecutively chlorinated and reacted upon with quinoline.

The method is suitable for solutions containing the two acids and also for urines, from which the two acids are extracted with isoamylic alcohol. The method still gives good results when the analysed sample contains 200 μg of kynurenic and 200 μg of xanthurenic acids respectively.

Brèves communications - Kurze Mitteilungen
Brevi comunicazioni - Brief Reports

Les auteurs sont seuls responsables des opinions exprimées dans ces communications. – Für die kurzen Mitteilungen ist ausschließlich der Autor verantwortlich. – Per le brevi comunicazioni è responsabile solo l'autore. – The editors do not hold themselves responsible for the opinions expressed by their correspondents.

The Formation of Hydrogen Peroxide During the Autoxidation of Ascorbic Acid

Ascorbic acid (Vitamin C) is usually described as a reducing agent, but several instances are known where it appears to act as an oxidizing agent. It has been shown that naphthalene is oxidized in aqueous acetone solutions of the vitamin[1], whilst under similar conditions, anthracene, phenanthrene and 3:4-benzpyrene are converted to the corresponding quinones[2]. The mechanism of these oxidations appears to be unknown but it has been suggested that hydrogen peroxide formed during autoxidation of the ascorbic acid is involved in the process. Since it has now been shown that 3:4-benzpyrene can be directly oxidized with hydrogen peroxide to products which include 8·0 H benzpyrene and the 5:8-quinone[3] the above explanation would appear more feasible. As there appears to be no record in the literature of the proof of peroxide formation in the course of reactions involving ascorbic acid further evidence on this point has been sought.

Two tests for hydrogen peroxide have been used:—the formation of yellow pertitanic acid from titanyl sulphate, and the formation of blue colour in the presence of ether, potassium dichromate and sulphuric acid. Both tests gave strongly positive results a few minutes after shaking ascorbic acid crystals with glass distilled water. Control tests of the water were negative. The possibility that the hydrogen peroxide found in the above experiments was, in any way, related to the addition of the test agents was eliminated by a further experiment. Ascorbic acid crystals were stirred into distilled water and after ten minutes the solution was shaken with ether; this being a reagent in which hydrogen peroxide, but not ascorbic acid, is soluble. After separation of the two layers some of the ether was withdrawn with a pipette and shaken with titanyl sulphate solution. The development of a yellow colour showed the presence of hydrogen peroxide. The ether used in this experiment had previously been tested and found free of contaminant peroxide.

It is evident from the above that ascorbic acid in solution will readily give rise to hydrogen peroxide. Whether a catalyst is essential for the reaction is uncertain. The experiments described were carried out in scrupulously clean glassware with reagents of the highest possible purity, but the possibility of contamination with traces of metal or other agent cannot be completely excluded.

These findings offer an explanation of the ability of ascorbic acid to act as an oxidizing agent under certain conditions and additionally may explain the anomalous results which have been obtained in electrode potential determinations[4].

G. Calcutt

Mount Vernon Hospital and The Radium Institute Northwood, Middx. England, September 21, 1950.

Zusammenfassung

Es konnte gezeigt werden, daß in Lösungen von Ascorbinsäure freies Wasserstoffsuperoxyd entsteht. Hiermit läßt sich wohl erklären, daß derartige Lösungen unter bestimmten Bedingungen oxydierend wirken können.

[1] W. P. Jorrissen, Naturw. Tijsche. *19*, 15 (1937).
[2] F. L. Warren, Biochem. J. *37*, 338 (1943).
[3] G. Calcutt, Brit. J. Cancer, *4*, 254 (1950).
[4] L. F. Hewitt, *Oxidation-Reduction Potentials in Bacteriology and Biochemistry* (Livingstone, Edinburgh, p. 60, 1950).

Photoreactivation in the near Ultra-violet of D-Glyceraldehyde-3-Phosphate Dehydrogenase

Partial reactivation of a crystalline preparation of triosephosphate dehydrogenase by irradiation in the near ultra-violet was observed during the course of an investigation of the inactivation of this enzyme by ultra-violet light and a measurement of the quantum yield for inactivation at 2537 Å.U.

The enzyme was prepared according to the method of Cori *et al.*[1] and recrystallized three times. In this form the enzyme has been shown to be firmly combined with a definite quantity of coenzyme (DPN) in the ratio of 1 mole DPN to 50,000 g triosephosphate dehydrogenase (TPD); neither recrystallization nor dialysis against distilled water remove the DPN[2]. Cori *et al.*[3] have recently shown that the DPN remains bound to the enzyme even after it has been reduced enzymatically in the presence of arsenate and glyceraldehyde phosphate; the method employed consisted of precipitation of the enzyme with ammonium sulphate following reduction of the DPN. During an independent study conducted at the same time it was found that reduced DPN (DPNH) could be readily dialyzed away against distilled water. The following test, involving no chemical alteration of the medium was therefore carried out: After reduction of the DPN in a 3 mg/cm^3 sample of the enzyme in pyrophosphate buffer at p_H 8·5, 0·7 cm^3 was centrifuged for 2 hours at 60,000 rpm in a Spinco ultracentrifuge using the analytical cell divided into two equal compartments by means of a diaphragm perpendicular to the radial axis of the cell, the purpose of which is to prevent mixing at the end of the run. The two fractions were then removed and their DPNH contents measured spectrophotometrically by means of the system pyruvate-lactic dehydrogenase. The optical densities at 3400 Å.U. of 5-times diluted samples of the inner and outer fractions and of a non-centrifuged sample were, respectively, 0·022, 0·050, 0·060. The fact that not all the DPNH is accounted for in the two fractions was due to deposition of some of the enzyme at the bottom of the cell. How-

[1] G. T. Cori, M. W. Slein, and C. F. Cori, J. Biol. Chem. *173*, 605 (1948).
[2] J. F. Taylor *et al.*, J. Biol. Chem. *173*, 619 (1948).
[3] C. F. Cori, S. F. Velick, and G. T. Cori, Biochim. Bioph. Acta *4*, 160 (1950).

ever, in a couple of trials it was not found possible to relate the DPNH content of each fraction to its protein content due to masking of the absorption maximum of the enzyme at 2780 Å.U. by a rather pronounced non-selective band in the same region and due, in some way, to the glyceraldehyde phosphate. It is, however, quite clear that the DPNH remains bound to some heavy particle.

Enzyme activity is completely destroyed by the centrifugation. The enzyme also shows one main component which crosses the middle of the cell in about 1½ hours; and a very broad component the peak of which, during the same period, has not yet detached itself from the meniscus. This same behaviour has been noted with the DPN oxidized or reduced, with the enzyme completely inactive prior to the run, or for a mixture of these. The natural inference is that the enzyme does not consist of one component.

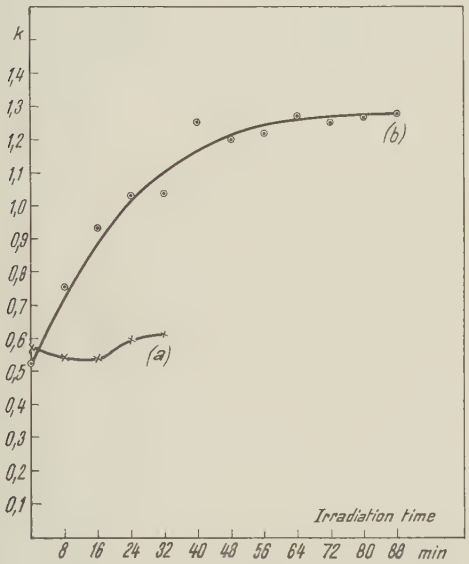


Fig. 1. — Activity (k) of triosephosphate dehydrogenase as a function of time of irradiation. (*a*) TPD-DPN; (*b*) TPD-DPNH.

A measurement of the quantum yield for inactivation of this enzyme must take account of the role played by the DPN, which accounts for about 35% of the absorption of the TPD-DPN complex at 2537 Å.U. It was first found that reduction of the bound DPN resulted in no significant difference in the quantum yield.

However, the behaviour of the system is entirely different when it is irradiated with light in the region 3100–3800 Å.U., which comprises the absorption band of DPNH, and where the absorption of the enzyme itself is negligible. Fig. 1 shows the enzyme activity as a function of the time of irradiation in the presence of (*a*) DPN, (*b*) DPNH. The light source was an ordinary mercury arc with a glass filter. It can be seen that while the TPD-DPN complex is practically unaffected, the activity of the TPD-DPNH increases rather abruptly and then reaches a limiting value.

The following points of interest were noted:

(*a*) The rate of reactivation at 5°C and 25°C did not appear to differ appreciably. The total amount of reactivation was apparently lower at 5°C, but it is not known whether this is significant.

(*b*) The phenomenon is one of reactivation and not of activation. Muscle TPD is an SH enzyme which is generally partially oxidized and requires a reducing agent for full activity. The degree of photoreactivation is considerably less than the increase in activity obtained in the presence of cysteine. Furthermore, in a trial where the enzyme was first completely reduced with cysteine, no photoreactivation was found.

(*c*) Partial inactivation of the enzyme by irradiation below 3000 Å.U. results in the appearance of non-selective absorption above 3100 Å.U. Subsequent irradiation in this latter region produced, as was expected, no photoreactivation.

(*d*) Following photoreactivation of the enzyme, the DPNH absorption band at 3400 Å.U. remains unaltered and all the DPNH can be reoxidized with pyruvate and lactic dehydrogenase. However, a small, but very definite increase in absorption takes place between 2400 and 2800 Å.U.

(*e*) Limiting the irradiation to a band in the neighbourhood of 3650 Å.U. (at which the DPNH absorption is still about 50% of that at 3400 Å.U.) by means of a Wood's filter only decreases the rate, but not the extent of photoreactivation. This is quite natural since, even at 3650 Å.U., the transmission of a Wood's filter is only about 40%.

(*f*) The enzyme was not sufficiently inactivated to show the phenomenon of heat activation[1]. In any event in all of the above experiments the samples were at a sufficient distance from the light source to prevent any rise in temperature.

It is most likely that the phenomenon is due to reduction of some of the enzyme SS groups provoked by the absorption of energy by the bound DPNH in the vicinity of these groups[2]. The fact that only partial reactivation is obtained may be linked to the two-site hypothesis of Cori *et al.*[3] if one assumes that the DPNH provokes the reduction of only those groups to which it is more tightly bound. The existence of two types of active sites in TPD has been postulated as well from studies of the phenomenon of heat activation[1].

On the basis of some additional results, as yet incomplete, it is not improbable that photoreactivation may be provoked at wave-lengths below 3000 Å.U. There are a number of reports in the literature of purported activation of crude enzyme extracts by ultraviolet irradiation[4]. In general such behaviour is contrary to accepted concepts of the mechanism of ultra-violet inactivation and denaturation of enzymes and proteins, and such findings have therefore heretofore been regarded with scepticism. If, however, one bears in mind the crude nature of the extracts used and the fact that the sources were in general not monochromatic, it is not at all unreasonable to explain these findings on the basis of indirect effects similar to that found for the photoreactivation of TPD. Such effects would also have to be taken into consideration in the irradiation of cells and tissues. It is of interest in this connection to note that the photoreactivation of ultra-violet inactivated bacteriophage has been logically explained on the basis of an indirect mechanism[5].

[1] L. Rapkine, D. Shugar, and L. Siminovitch, Arch. Biochem. *26*, 33 (1950).

[2] L. Rapkine, S. M. Rapkine, and P. Trpinac, C. r. Acad. Sci. *209*, 253 (1939).

[3] C. F. Cori, S. F. Velick, and G. T. Cori, Biochim. Bioph. Acta *4*, 160 (1950).

[4] F. F. Heyroth, *Chemical action of ultra-violet rays* (Reinhold Publ. Co., New York, 1940).

[5] R. Dulbecco, J. Bacteriol. *59*, 329 (1950).

A few trials were carried out, in collaboration with Mlle Annette Prevot of the Institut de Chimie Physique, to see if it were possible to reactivate an enzyme preparation under the influence of X-rays which could conceivably cause reduction of SS groups by free radicals. The overall effect of X-irradiation on SH enzymes has been shown by Barron *et al.*[1] to result in inactivation due to oxidation of the SH groups by free radicals; following irradiation, activity can be partially restored by means of a reducing agent. To eliminate the effect of oxidation, tests were conducted on an old spontaneously oxidized sample of enzyme which still retained an appreciable number of reducible SS groups (as shown by the appearance of enzymatic activity in the presence of cysteine). No measurable activity could be detected, however, following irradiation with increasing doses up to several thousand rœntgens. The inference is, therefore, that reduction of SS groups by free radicals does not take place or, if it does, that it is immediately reversed by oxidation. This result, incidentally, is in accord with the recent findings of Barron and Flood[2] in regard to the X-irradiation of thiols; and would appear to indicate that oxidation, rather than reduction, by free radicals is the more important physiological result of irradiation by X-rays.

Full experimental details of the photoreactivation process will be presented in a forthcoming publication on the ultra-violet irradiation of triosephosphate dehydrogenase.

I should like to express my thanks to Mr. B. Chalopin for assistance with the ultracentrifugations, to Miss. B. Tchoubar for advice and assistance in the preparation of the glyceraldehyde phosphate and to Dr. Dorothy N. Needham, F.R.S., for a sample of purified lactic dehydrogenase.

Note added December 12, 1950: Of interest in relation to the above results is an experiment reported by Calcutt (G. Calcutt, Nature, *166*, 443 [1950], following the writing of this report. Cultures of Paramecium bursaria, submitted to the action of SH inhibitors, were found to be killed more rapidly when exposed to light from a mercury arc emitting radiations above 3300 A. The results lead the author to the conclusion that "radiation with wave-lengths greater than 3300 A. causes an increased exposure of intra-cellular sulphydryl groups".

David Shugar

Institute of Physical-chemical Biology, Faculty of Sciences, Paris[3], June 15, 1950.

Résumé

On a constaté que le coenzyme (DPN) lié à la triosephosphate déshydrogénase reste lié après réduction. L'irradiation du complexe (enzyme)-(coenzyme réduit) dans l'ultra-violet proche réactive partiellement l'enzyme. Le mécanisme du phénomène est discuté et les résultats de quelques expériences d'irradiation par les rayons X sont donnés.

[1] E. S. G. Barron *et al.*, J. Gen. Physiol. *32*, 537 (1949).
[2] E. S. G. Barron and V. Flood, J. Gen. Physiol. *33*, 229 (1950).
[3] Present address: Laboratoire de Morphologie animale, Université libre de Bruxelles.

Über die tuberkulostatische Wirksamkeit einiger Derivate der para-Aminosalizylsäure

Seit der Einführung der para-Aminosalizylsäure (PAS) in die Therapie sind zahlreiche Isomere, Homologe und Derivate dieses Chemotherapeutikums synthetisiert und auf ihre tuberkulostatische Wirkung geprüft worden. Trotz der großen Zahl dieser Versuche wurden bisher die mit PAS erhaltenen Resultate nicht übertroffen, wiewohl PAS den Nachteil aufweist, aus dem Organismus sehr rasch ausgeschieden zu werden. Es kann daher ein Präparat klinisch interessant sein, wenn es zwar PAS in der tuberkulostatischen Wirkung nicht oder nur wenig übertrifft, jedoch infolge günstigerer Ausscheidungsverhältnisse die im Körper notwendige Blutkonzentration mit kleinern Mengen erhalten wird. Besonders aussichtsreich schienen PAS-Derivate zu sein, bei denen PAS mit Substanzen kombiniert ist, die selbst eine tuberkulostatische Wirkung aufweisen. Bekanntlich haben zahlreiche Autoren auf die günstige Wirkung einer Kombinationstherapie hingewiesen. Die Arbeiten von Rist[1], Möschlin[2] und Heilmeyer[3] haben gezeigt, daß bei gleichzeitiger Verabreichung von PAS und Streptomycin beziehungsweise Sulfonen oder Thiosemicarbazonen ein verstärkter therapeutischer Effekt erzielt wird. Es wurde untersucht, ob auch die Kombination von PAS mit dem zur Therapie der Tuberkulose früher vorgeschlagenen Chaulmoograöl bzw. Chaulmoograsäurederivaten günstigere Resultate ergibt, wie dies schon von Wildbolz[4] für die Kombination von Streptomycin und Moogrol gezeigt wurde. Es wurde festgestellt, daß schon die halbe Menge PAS, unter Zusatz von Chaulmoograöl bzw. Chaulmoograsäure oder gewissen Substanzen mit einem Zyklopentenylrest, die gleiche tuberkulostatische Grenzkonzentration ergibt, wie sie für das PAS bestimmt wurde, obwohl die Wirksamkeit dieser Substanzen bedeutend geringer ist als diejenige von PAS.

Nach Wagner-Jauregg[5] kommt für die Wirkung der Chaulmoograsäure dem im Molekül enthaltenen Zyklopentenylkern wesentliche Bedeutung zu. Es wurden deshalb einige PAS-Derivate, welche den Zyklopentenylrest enthalten, synthetisiert und in die Versuche einbezogen. Entgegen den Beobachtungen von Lehmann[6], wonach die tuberkulostatische Wirkung durch Azylierung der Aminogruppe abgeschwächt wird, wurde gefunden, daß gewisse PAS-Derivate, die einen Zyklopentenylrest enthalten, bei *in-vitro*-Versuchen gar keine Abschwächung der tuberkulostatischen Wirkung zeigen. Auch die Ausscheidungsverhältnisse scheinen für einige dieser Substanzen günstiger zu liegen, indem z. B. die Präparate Nr. 612 und Nr. 622 nach oraler Applikation beim Kaninchen eine höhere und länger dauernde Blutkonzentration ergeben.

Die Wachstumsversuche von Tuberkelbazillen wurden sowohl nach der Oberflächenwachstums-Methode, wie sie von Lehmann[6] und Bloch[7] verwendet wurde, als auch nach der Tiefenwachstums-Methode nach Solomidès[8] vorgenommen. Dabei zeigte sich, daß man im Sauton-Milieu nach Solomidès im *in-vitro*-Versuch verläßlichere Resultate erhält, als mit den Oberflächenkulturen. In den Tabellen haben wir denn auch nur die

[1] N. Rist, Ann. Inst. Pasteur *77*, 680 (1949); Schweiz. Med. Wschr. *78*, 224 (1948).
[2] S. Moeschlin und B. Demiral, Schweiz. Med. Wschr. *80*, 373 (1950).
[3] L. Heilmeyer, Klin. Wschr. *27*, 717 (1949).
[4] E. Wildbolz, Klinische Demonstration vor dem Bezirksverein Bern (18. November 1948).
[5] Th. Wagner-Jauregg, Z. Hyg. *124*, 311 (1942).
[6] J. Lehmann, Lancet *250*, 14 (1946).
[7] H. Bloch, G. Brubacher, H. Erlenmeyer und E. Suter, Helv chim. acta *30*, 539, 2058 (1947).
[8] J. Solomidès, Ann. Inst. Pasteur *76*, 371 (1949).

Tabelle I

Kombination	Molare Verdünnung, die Wachstumshemmung bei Tb-Stamm H 37 rv bewirkt (nach SOLOMIDÈS)
PAS (allein)	900000–1000000
½ PAS + ½ Ol. Hydnocarpi. . . .	900000–1000000
½ PAS + ½ Zyklopentenylessigsäureäthylester	1–2000000
½ PAS + ½ Hydnochaulsäureäthylester	900000–1000000
½ PAS + ½ Chaulmoograsäureäthylester	800000– 900000

Verdünnungen, welche auf SAUTON-Nährmilieu nach SOLOMIDÈS-Wachstumshemmung bewirken, aufgeführt. Zur Versuchsanordnung wurde SAUTON-Nährmilieu in Reagensröhrchen abgefüllt, Pferdeserum ($^1/_{30}$) zugesetzt und die in Alkohol gelösten Tuberculostatica in Verdünnungen von 1:5000 bis 1:5000000 molar zugegeben. Hernach wurden die Röhrchen mit einer gleichen Menge einer Tuberkelbazillen-Aufschwemmung des Stammes H 37 rv beschickt. Nach 14tägiger Bebrütung wurden die molaren Verdünnungen festgestellt, bei denen die Tuberkelbazillen kein Wachstum mehr zeigten.

Die Darstellung der Substanzen erfolgte nach bekannten Methoden. Die für die Charakterisierung angegebenen Schmelzpunkte sind unkorrigiert, wobei zu beachten ist, daß PAS-Derivate sich bei Schmelzpunkttemperatur zersetzen.

Die Resultate sind in den Tabellen I, II und III zusammengefaßt.

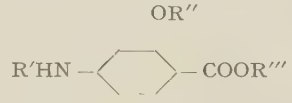
W. TATERKA, A. DEMOLIS und R. URSPRUNG

Wissenschaftliche Laboratorien der AG. vorm. B. Siegfried, Zofingen, den 1. September 1950.

Résumé

Nous avons effectué la synthèse d'une série de combinaisons du PAS qui pour la plupart sont nouvelles et dont nous avons évalué le pouvoir bactériostatique. Nous

Tabelle II



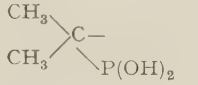
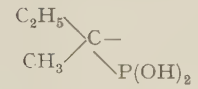
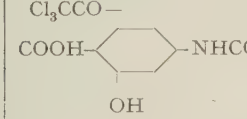
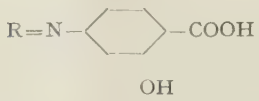
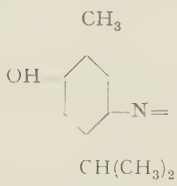
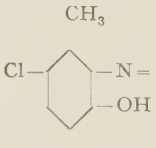
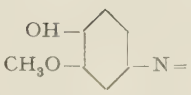
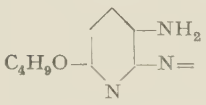
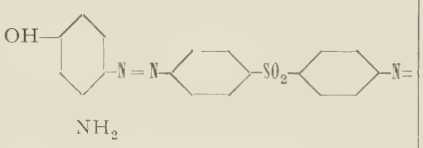
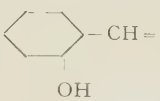
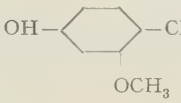
	R' =	R'' =	R''' =	Formel	Molekulargewicht	F (unkorrigiert)	Analyse kalkuliert %	Analyse gefunden %	Molare Verdünnung, die Wachstumshemmung bei Tb-Stamm H 37 rv bewirkt (nach SOLOMIDÈS)
607	C_6H_5-	H	H	$C_{13}H_{11}O_3N$	229	181°			10000– 50000
555	$C_6H_5CH_2SO_2-$	H	H	$C_{14}H_{13}O_5NS$	307	211°	N: 4,5	4,2	100000–500000
562	$CH_2OH\cdot(CHOH)_4CH-SO_3Na$	H	H	$C_{13}H_{18}O_{11}NSNa$	419		S: 7,6	7,6	100000–500000
618		H	H	$C_{10}H_{14}O_5NP\cdot H_2O$	277	164°	P: 11,18	11,0	50000–100000
619		H	H	$C_{11}H_{16}O_5NP\cdot 2H_2O$	309	168°	P: 11,34	11,3	50000–100000
571	$CH_3\cdot CH_2\cdot CO-$	H	H	$C_{10}H_{11}O_4N$	209	223°			50000–100000
572	$CH_3C\cdot H_2\cdot CH_2\cdot CO-$	H	H	$C_{11}H_{13}O_4N$	223	207°			500000–600000
612	$C_5H_7\cdot CH_2\cdot CO-$	H	H	$C_{14}H_{15}O_4N$	261	190–191°	C: 64,35 N: 5,36 H: 5,79	63,98 5,45 5,81	900000–1000000
611	$C_5H_7\cdot(C_2H_5)CH-CO-$	H	H	$C_{16}H_{19}O_4N$	289	169°	N: 4,84	4,7	50000–100000
625	$C_5H_9CH_2\cdot CO-$	H	H	$C_{14}H_{17}O_4N$	263	222–223°	N: 5,32	5,25	10000–50000
624	$C_5H_7\cdot(CH_2)_{12}CO-$	H	H	$C_{25}H_{37}O_4N$	415	194–196°	N: 3,37	3,5	600000–700000
581	$ClCH_2-CO-$	H	H	$C_9H_8O_4NCl$	229,5	227–228°	N: 6,08	5,95	100000–500000
580	$Cl_2CH-CO-$	H	H	$C_9H_7O_4NCl_2$	264	219–221°	N: 5,34	5,47	100000–500000
577	Cl_3CCO-	H	H	$C_9H_6O_4NCl_3$	298,5	222–223°	N: 4,68	4,75	100000–500000
615		H	H	$C_{15}H_{12}O_7N_2$	331	233° Zers.	N: 8,44	8,55	100000–500000
525	H	CH_3	H	$C_8H_9O_3N$	167	152°	N: 8,3	8,1	100000–500000
534	H	H	C_2H_5	$C_9H_{11}O_3N$	181	113–114°	N: 7,7	7,6	100000–500000
574	$C_5H_7\cdot(CH_2)_{10}\cdot CO-$	H	CH_3	$C_{24}H_{35}O_4N$	401,4	91°	N: 3,5	3,4	50000–100000
573	$C_5H_7\cdot(CH_2)_{12}\cdot CO-$	H	CH_3	$C_{26}H_{39}O_4N$	429	89°	N: 3,25	3,0	300000–400000
569	$C_5H_9\cdot CH_2\cdot CO-$	H	CH_3	$C_{15}H_{19}O_4N$	277	135°	N: 5,06	5,2	800000–900000

Tabelle III



	R =	Formel	Molekulargewicht	F	Analyse		Molare Verdünnung, die Wachstumshemmung bei Tb-Stamm H 37 rv bewirkt (nach Solomidès)
					kalkuliert %	gefunden %	
519		$C_{17}H_{18}O_4N_2$	314	–	N: 8,9	9,1	10000– 50000
520		$C_{17}H_{17}O_4N_2Cl$	348,5	–	Cl: 11,1	10,7	100000–500000
521		$C_{14}H_{12}O_5N_2$	288	–	N: 9,65	9,4	100000–500000
526		$C_{16}H_{18}O_4N_4$	330	–	N: 16,9	16,65	500000–600000
528		$C_{26}H_{22}O_8N_6S$	576	–	S: 5,55	5,7	50000–100000
561	$C_6H_5 \cdot CH=$	$C_{14}H_{11}O_3N$	241	Zersetzung	N: 5,8	5,55	100000–500000
557	$C_6H_5 \cdot CH=CH-CH=$	$C_{16}H_{13}O_3N$	267	169° Zers.	N: 5,24	5,0	50000–100000
559		$C_{14}H_{11}O_4N$	257	198°	N: 5,45	5,6	50000–100000
560		$C_{15}H_{13}O_4N$	271	Zersetzung	N: 5,15	5,0	100000–500000
558		$C_{15}H_{13}O_5N$	287	Zersetzung	N: 4,87	4,75	500000–600000
556	$CH_2OH(CHOH)_4 \cdot CH=$	$C_{13}H_{17}O_8N$	273		N: 5,14	5,02	600000–700000

avons pu ainsi mettre en évidence l'activité accrue de quelques combinaisons du PAS avec des dérivés de l'acide chaulmoogrique et montrer que celles ayant un radical cyclopentényl étaient parmi les plus actives.

On two Sexual Races of *Asterina gibbosa* (Penn.)

True hermaphroditism, as well as intersexuality, which closely resembles it, must be studied in large samples of a population and not in a few isolated individuals. This was made particularly clear by researches on hermaphrodite Molluscs, where studies were initially made on *Ostrea* from extensive beds (SPÄRK[1], ORTON[2], COE[3]) and were later carried on, using the same principles, in other hermaphrodite Molluscs such as *Teredo* (COE[4], GRAVE[5]), *Venus* (LOOSANOFF[6]), *Patella* (ORTON[7], BACCI[8]), *Crepidula* (GOULD[9], ORTON[10], COE[11]) etc. Two main series of observations resulted from such researches, which could not have been disclosed by the examination of a few specimens only:—(1) in some hermaphrodite populations there are a few individuals which show one type only of sexual cells and remain always males or females;— (2) some hermaphrodite animals, which normally have completely male or female gonads, undergo sex reversal in a very short period of their existence and simulate therefore true gonochoristic animals. Although the first fact has been emphasized especially by COE, the existence of *true males* and *females* (COE[12]), or of *primary gonochorists* (BACCI[13]) in an otherwise hermaphrodite population, has been almost universally overlooked. The second series of observations points to the possible existence of many unknown *false gonochorists*, and more information regarding these may ultimately lead to a complete revision of our knowledge of the sexual conditions in certain invertebrate groups (BACCI[8]).

The writer has widely applied statistical methods to the study of these problems, basing his researches on the fact that in most hermaphrodites the functionally male and functionally female phases are sharply distinguishable during the breeding season. It is possible therefore to estimate the different proportions of individuals in the male and in the female phase of different ages and lengths, and consequently the periods when changes of sex phase take place in the different individuals. This method cannot, of course, be used alone, and the writer's results are clear only in variing degrees according to the animals studied. It has, in any case, an orientation value which permits us to place the problem of hermaphroditism on a genetical foundation.

The case of *Asterina gibbosa*, a small Asteroid living in shallow waters, is striking. CUÉNOT[14], studying it in Roscoff, demonstrated that *Asterina* is a protandric hermaphrodite, but LUDWIG[15] remarked that some old individuals in Naples are males and some young ones are females. In a later paper CUÉNOT[1] showed that in Naples and in Banjuls apparently gonochoristic and hermaphrodite animals are present together. This observation was long forgotten until the writer noticed the close resemblance of the sexual conditions of the Mediterranean *Asterina* with those observed in some Molluscs, especially *Patella* (BACCI[2]).

If we plot the number of individuals in the male phase against the number of individuals in each size class, we obtain curves such as those shown in Fig. 2, where the abscissa represents the arm length and the ordinate the percentage of individuals in the male phase. In a previous work on an *Asterina* population in Plymouth[3], the following main results were thus obtained:

(a) all the individuals of the population are protandric hermaphrodites;

(b) sex reversal takes place in individuals having an arm length between 9 and 16 mm.

The above facts are shown by the diagram in Fig. 2, left.

Histological study of the gonads showed that in the Plymouth population:

(c) the gonads appear ambisexual from a very early stage;

(d) the maturation of the male always precedes that of the female elements, which continue their growth during the male phase.

Thus the previous observations by CUÉNOT on the Atlantic race were confirmed.

LUDWIG's and CUÉNOT's observations on the Naples *Asterina* were made on individuals taken from a population living near S. Lucia, which is now almost extinct. The present observations have been made therefore on a population in Lake Fusaro near Naples, where individuals do not become so big as in S. Lucia, but are much more numerous. Observations made on a sample of 567 individuals collected in April showed that the population is composed of three different age groups; the first is formed by individuals born during the previous breeding season, with a mean arm length of 11–12 mm; the second by individuals of the second year (M between 17 and 18 mm); the third by three-year-old individuals of mean size 24 mm (Fig. 1, left). If we now divide the population into male-phase and female-phase individuals, we see that males are much more numerous (about 80%) in the first year group, less numerous (about 30%) in the second year group, and very scarce among individuals of the third year (Fig. 1, right). If we now plot the number of male phase individuals against the totals of each size class, we obtain a curve (Fig. 2, right) which differs widely from that obtained in the Plymouth *Asterina*. It is very irregular because sex changes take place *at different ages* and not *at one definite age*, as in the Plymouth *Asterina*. Additional samples of large size individuals were examined and showed about 15% of male-phase individuals. These data were not added to the illustrated sample in order to avoid an alteration in the proportion of the different age groups, as they result from a random collection.

The morphological aspect of the gonads of the Naples individuals is basically the same as in the Plymouth ones, but seemingly ripe oocytes are more frequent in

[1] R. SPÄRK, Rep. Dan. Biol. Stat. *30*, 5 (1924).
[2] J.H. ORTON, J. Mar. Biol. Assoc. *14*, 967 (1927).
[3] W.R. COE, Biol. Bull. *63*, 419 (1932); Bull. Scripps Inst. Oceanogr. *3*, 119 (1932); Ama. Nat. *68*, 236 (1934); Biol. Bull. *74*, 64 (1938).
[4] W.R. COE, Biol. Bull. *65*, 283 (1933); Science *80*, 192 (1934); Biol. Bull. *71*, 122 (1936); *84*, 178 (1943).
[5] B.H. GRAVE, Biol. Bull. *70*, 232 (1936); *82*, 438 (1942).
[6] V.L. LOOSANOFF, Biol. Bull. *72*, 389 and 406 (1937).
[7] J.H. ORTON, J. Mar. Biol. Assoc. *15*, 851 (1928).
[8] G. BACCI, Pubb. Staz. Zool. Napoli *21*, 183 (1947); *22*, 1 (1949).
[9] H.N. GOULD, J. Exper. Zool. *23*, 1 (1927); *29*, 113 (1919); Biol. Bull. *93*, 194 (1947).
[10] J.H. ORTON, Proc. R. Soc. London *81*B, 468 (1909); J. Mar. Biol. Assoc. *9*, 437 (1912).
[11] W.R. COE, J. Exper. Zool. *72*, 455 (1936); Biol. Bull. *75*, 274 (1938); J. Morph. *70*, 501 (1942); J. Exper. Zool. *108*, 155 (1948).
[12] W.R. COE, Quart. Rev. Biol. *18*, 154 (1943).
[13] G. BACCI, Arch. Zool. Ital. *34*, 49 (1949).
[14] L. CUÉNOT, Arch. Zool. Expér. Gen. (*2*) *5bis*, 1 (1887).
[15] H. LUDWIG, Fauna u. Flora des Golfes von Neapel *24* (1897).

[1] L. CUÉNOT, Zool. Anz. *21*, 273 (1898).
[2] G. BACCI, Pubb. Staz. Zool. Napoli *21*, 183 (1947); *22*, 1 (1949).
[3] G. BACCI, Arch. Zool. Ital. *34*, 49 (1949).

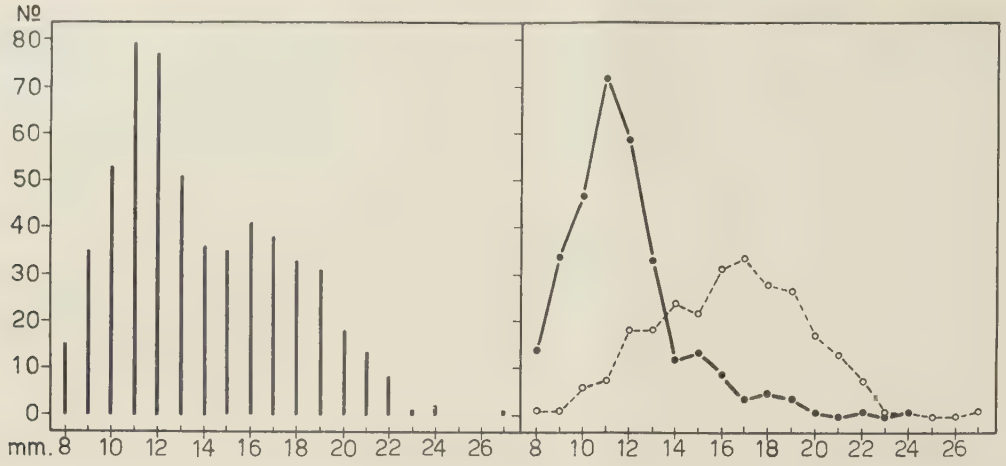


Fig. 1. – Frequencies of individuals of various arm lengths from a collection from L. Fusaro near Naples.

Left: total frequencies.

Right: frequencies of male-phase (continuous line) and female-phase individuals (broken line).

predominantly male gonads at Naples than they are at Plymouth, especially in the individuals of the older age groups. This fact may have considerable physiological consequences for the succession of sexual phases. Females of the smallest size classes have gonads with female and indifferent germ cells only. On the other hand, large males with very few small oocytes can be observed. The wide differences in the gonadal conditions in the Naples *Asterina* seem thus to provide the morphological basis for the differences in the succession of sexual phases in the various individuals of the population.

As already announced, the study of the different conditions in the Mediterranean and Atlantic *Asterina* was started in order to provide a basis for experimental research on sex determination (Montalenti[1], Bacci[2]). First, we wished to know whether young female phase individuals and old male phase individuals are, in Naples, genetically determined. Secondly, we wished to discover wether such determination might be due to a multiple-gene mechanism. It was found later that an answer to these general questions could better be provided by the Polychæte worm *Ophryotrocha puerilis*, which has a much speedier rate of reproduction and, moreover, has been so well investigated under certain aspects by Hartmann and his collaborators[3]. The first results on researches on *Ophryotrocha* will be published shortly.

[1] G. Montalenti, Conference at the XIII Congress of Zoology in Paris (1948) (in print).

[2] G. Bacci, Pubb. Staz. Zool. Napoli *21*, 183 (1947); *22*, 1 (1949).

[3] M. Hartmann *et al.*, Zool. Jb. *56*, 389 (1936); *58*, 551 (1938); *60*, 1 (1940).

In this preliminary note the writer wishes to point out particularly the wide distribution of sexually *unbalanced hermaphrodites* (Bacci[1]), which are exemplified by *Ophryotrocha*, *Grubea* and *Exogone* among Polychætes[2], by some Oysters and *Teredo* among Lamellibranchs, by *Patella* and *Crepidula* among Gastropods, and by Naples *Asterina* among Echinoderms. It is interesting to remark that many of these forms are false gonochorists or cryptohermaphrodite animals. These unbalanced hermaphrodites may be taxonomically allied to *balanced hermaphrodites*, that is to hermaphrodites that change sex at a definite age (Plymouth *Asterina* type). This is the situation outlined above.

The wide variety of the expression of sexuality in different hermaphrodite individuals and different populations, shows that hermaphroditism cannot properly be regarded as a uniform and neutral condition where external factors exert unchecked their different influences. On the contrary, various specifically reacting systems, in which racial and genetical factors must be taken into account, seem to play a fundamental role.

Guido Bacci

Zoological Station of Naples, May 25, 1950.

Zusammenfassung

Mit statistischen Methoden wird für *Asterina gibbosa* ein in Plymouth stattfindender Geschlechtsumschlag

[1] G. Bacci, Arch. Zool. Ital. *34*, 49 (1949).

[2] In a paper by Abeloos (C. R. Acad, Sci. *231*, 179, 1950) similar sex conditions have been described also for *Platynereis dumerili*.

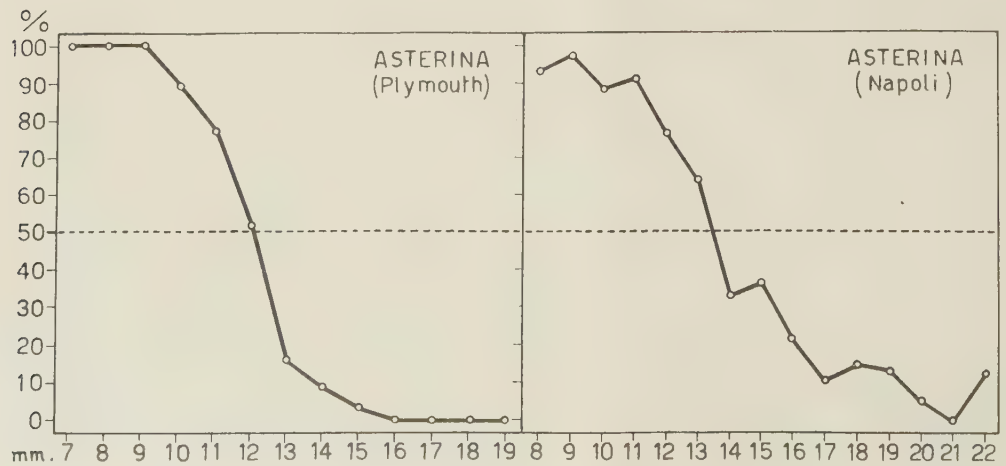


Fig. 2. – Percentages of male-phase individuals.

Left: Plymouth *Asterina*.

Right: Naples *Asterina*.

auf einer bestimmten Altersstufe bewiesen. In Neapel findet der Geschlechtsumschlag auf verschiedenen Altersstufen statt. Die Individuen der ersteren Art können als «ausgeglichene» (balanced) Zwitter, die der letzteren Art als «unausgeglichene» (unbalanced) Zwitter angesehen werden. Der Verfasser nimmt an, daß man den Zustand des ausgeglichenen Zwittertums auf die Segregation multipler Geschlechtsfaktoren zurückführen könne.

Influence du jeûne sur les oscillations nycthémérales du fer sérique

Dans leur monographie parue en 1937, HEILMEYER et PLÖTNER[1], se demandant s'il existe des variations physiologiques du taux de fer sérique, citent les expériences de leur élève ANTON qui constate d'une part une élévation de la sidérémie de 13% après 12 heures et de 25% après 24 heures chez un sujet à jeun et d'autre part une chute de la sidérémie atteignant 20% après l'absorption d'épinards, aliment pourtant riche en fer. Ils citent également un travail de LOCKE, MAIN et ROSBACH[2] qui signalent une élévation identique de la sidérémie après 24 heures de jeûne. Finalement HEILMEYER et PLÖTNER n'accordent pas d'importance à ces variations qui n'excèdent pas les différences de taux de fer sérique existant d'un jour à l'autre.

Les variations constantes de la sidérémie au cours du nycthémère sont signalées pour la première fois en 1941 par VALQUIST[3]. A la même époque, HEMMELER[4] constate également des taux différents au cours de la journée, plus élevés le matin que le soir. Il attribue ces variations de la sidérémie à la prédominance alternée du vague et du sympathique. La vagotonie de la convalescence de l'hépatite épidémique, qui se manifeste en outre par une bradycardie et une leucopénie avec lymphocytose, s'accompagne d'oscillations nycthémérales plus amples, dues surtout à l'élévation du taux de fer sérique du matin. Depuis lors, HEMMELER a pu préciser cette conception par l'étude de nombreux cas de troubles neuro-végétatifs. Recherchant la cause de ces variations, il admet qu'elles ne dépendent ni de la température du corps, ni du travail musculaire, mais uniquement de l'alternance de tonus des systèmes vague et sympathique dont l'équilibre est dominé par le sommeil; l'élévation du taux de fer sérique du matin est en relation avec la durée et l'intensité du sommeil. Pour expliquer le mécanisme de cette régulation nycthémérale, HEMMELER envisage plusieurs hypothèses telles que le rythme de stockage du fer, l'excitation diurne de l'hématopoïèse sous l'influence du sympathique avec utilisation de fer, l'augmentation des besoins de fer de toutes les cellules de l'organisme pendant l'activité, le passage du fer de la paroi intestinale aux organes de réserve pendant la nuit, les variations de taux de la protéine sérique qui lie le fer. Comme aucune de ces hypothèses ne donne satisfaction, il envisage la possibilité d'une relation avec les variations du p_H du sang.

[1] L. HEILMEYER und K. PLÖTNER, *Das Serumeisen und die Eisenmangelkrankheit* (Fischer, Jena 1937).

[2] A. LOCKE, E. R. MAIN, and D. O. ROSBASH, cités par L. HEILMEYER et K. PLÖTNER.

[3] B. VALQUIST, Acta Paediatr. *28*, suppl. V (1941).

[4] G. HEMMELER, Schweiz. med. Wschr. *35*, 1056 (1943); Helv. med. acta *11*, 201 (1944); Cah. mens. Méd. *1945*, N° 2, 42; *1946*, N° 2, 216; *1949/50*, N° 5, 363.

HOYER[1], qui a également étudié les oscillations nycthémérales du taux de fer sérique, ne constate aucune relation avec l'hydrémie du sang, l'exposition à la lumière, l'effort et le jeûne; lui aussi conclut que seul le sommeil a une influence sur les oscillations physiologiques de la sidérémie.

Si le sommeil est indispensable au rythme normal du nycthémère, la prise d'aliments nous a paru tout aussi importante, caractérisant, avec l'effort intellectuel et physique, l'activité diurne. Aussi avons-nous repris cette question en dosant le fer sérique le matin et le soir, lors d'une alimentation normale et lors d'une journée de jeûne. Les prises de sang du matin ont été faites entre 8 et 9 heures et celles du soir, 9 heures plus tard, entre 17 et 18 heures.

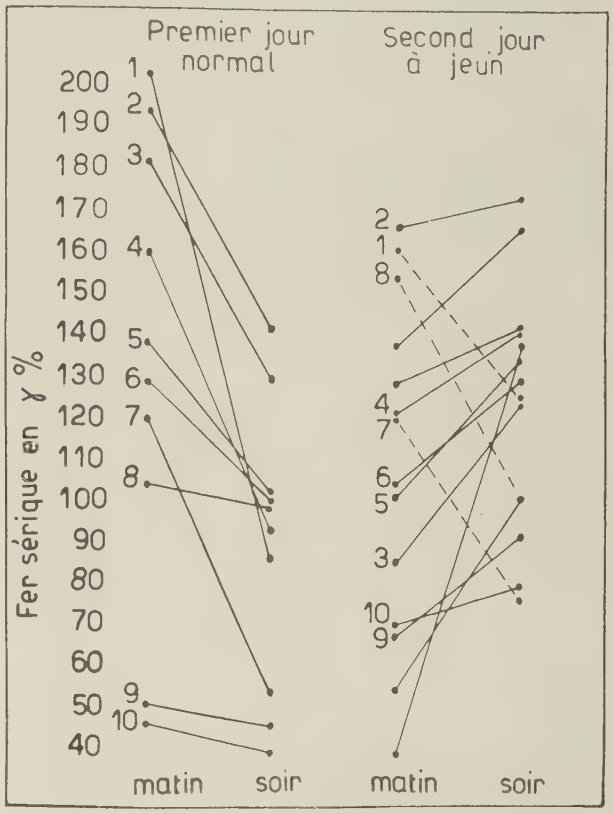


Fig. 1.

Nous avons constaté que *le taux de fer sérique s'élève en général au cours de la journée chez le sujet resté à jeun* (fig. 1).

Nous avons relevé un second fait intéressant: *l'élévation du taux de fer sérique qui accompagne le jeûne, est nettement plus marquée chez les sujets ayant une activité normale que chez ceux qui sont au repos.* Nous avons reporté sur la fig. 2 les amplitudes d'oscillation de la sidérémie au cours de la journée des cas présentés sur les fig. 1 et 3, en groupant à gauche les sujets actifs et à droite les sujets au repos.

Le taux de fer sérique des sujets actifs s'élève dans tous les cas pendant une journée de jeûne. Dès le réveil et jusqu'à la prise de sang du soir (entre 17 et 18 heures) les sujets n'ont absolument rien mangé et n'ont bu qu'un verre d'eau au plus, à midi.

[1] K. HOYER, *Serumjernets, fysiologiske variation* (Universitetsforlaget I Aarhus, Copenhague, 1946).

Chez les sujets au repos, alités une partie de la journée et n'étant pas sortis de l'hôpital, l'élévation, au cours du même jeûne, est en moyenne nettement plus faible et dans 4 cas le taux du fer sérique s'abaisse tout de même. Deux de ces quatre cas présentent cependant une baisse plus forte avec leur alimentation normale qu'à jeun, ce sont les cas 1 et 7 de la fig. 1. Dans le cas 5 de la fig. 3, le patient a gardé le lit toute la journée.

Enfin, nous avons fait une troisième constatation intéressante: les oscillations nycthémérales du fer sérique semblent être parfois encore inversées le lendemain du jour de jeûne (repas du soir du jour de jeûne normal). Dans quatre cas sur sept, le taux de fer sérique s'élève au cours de la journée suivante comme le montre la fig. 3, que le sujet soit actif ou au repos. Les trois autres cas présentent la chute vespérale habituelle.

Cette dernière constatation montre l'importance des perturbations provoquées par le jeûne.

Ces faits nous suggèrent deux hypothèses.

1° Comme le taux de fer sérique s'abaisse lorsque le sujet s'alimente normalement et qu'il s'élève lorsque le sujet est à jeun, on peut se demander si le fer ne participe pas à la transformation en réserves (glycogène, graisse) des substances résorbées au niveau de l'intestin. Le fer ainsi lié à ces réserves serait libéré lors de l'utilisation de celles-ci pendant le jeûne. De plus, cette utilisation de réserves est certainement plus importante si le sujet est actif que s'il est au repos, ce qui expliquerait l'élévation plus marquée de la sidérémie à jeun lorsque les sujets sont actifs.

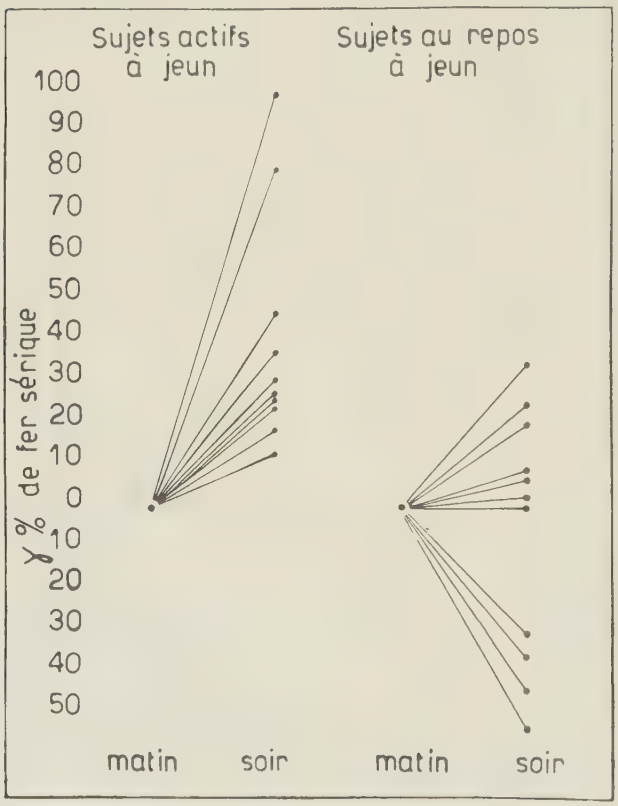


Fig. 2.

Il se pourrait donc que l'amplitude des oscillations nycthémérales de la sidérémie dépende pour une grande part de l'alimentation et de l'activité des sujets.

2° L'inversion des oscillations nycthémérales provoquée par le jeûne, accentuée par l'activité, pourrait être un effet de stress. Le jeûne est un agent stressant important qui de plus sensibilise l'organisme à l'action des autres agents stressants. Ainsi, même si l'activité musculaire normale de nos sujets est peu intense, elle pourrait avoir un effet stressant pendant le jeûne. Dans son livre intitulé «Stress» qui vient de paraître, Selye[1] écrit que le jeûne a tendance à faire monter le taux du fer plasmatique chez l'homme; il cite un travail de Eser[2] qui admet que cette élévation se fait chez le lapin aux dépens des stocks de fer hépatiques.

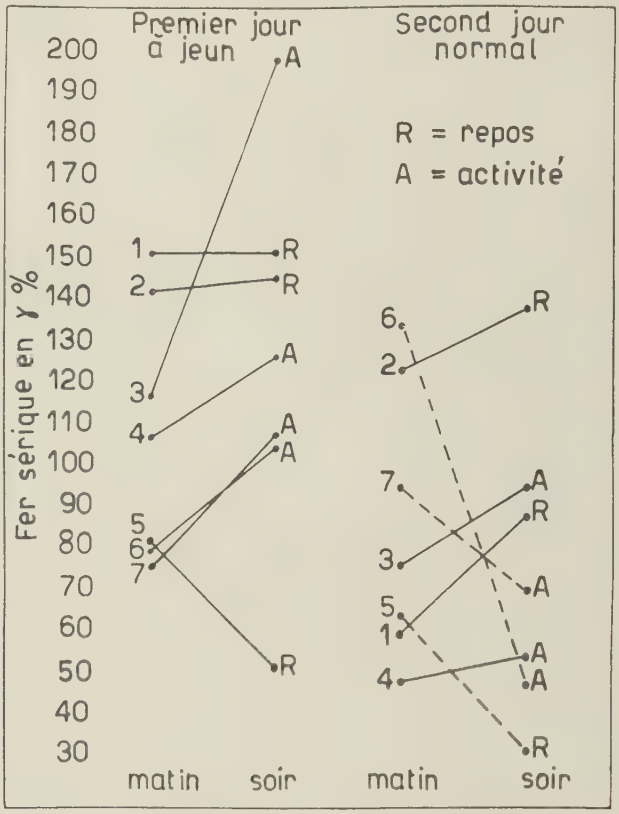


Fig. 3.

La conclusion pratique à tirer de ces constatations est l'obligation de mettre dans les mêmes conditions (nourriture, activité) les sujets chez lesquels on désire étudier les oscillations nycthémérales de la sidérémie, en particulier pour mettre en évidence des troubles neuro-végétatifs. En outre, il semble que pour interpréter le taux de fer sérique du matin, il faudra tenir compte non seulement de la durée et de la qualité du sommeil mais encore de l'alimentation de la veille, surtout de l'heure et de l'importance du repas du soir.

Bernard Jacot

Clinique médicale universitaire de Lausanne, le 2 octobre 1950.

Summary

Instead of becoming lower during the day, the serum iron level rises when a person is fasting, and this all the more when this person is active. These facts suggest that some iron may be attached to the reserves (glycogen, fat), since the serum iron diminishes during the formation of these reserves (nourishment) and increases during their utilization (fasting, activity, night), unless the effect of fasting increased by activity be one of stress.

[1] H. Selye, *Stress* (Acta Inc., Montréal 1950).

[2] S. Eser, Arch. int. pharmacodyn. thérap. *73*, 392 (1947).

De l'influence de l'acétylcholine sur la perméabilité oculaire

De la différence d'effet du chlorure et du manganochlorure d'acétylcholine sur cette perméabilité.

Nous savons de par la clinique que le système nerveux végétatif exerce une influence sur la perméabilité cellulaire et que les syndromes vagotoniques s'accompagnent volontiers d'œdèmes, alors que ceux où le sympathique prédomine en sont dépourvus[1].

Il y a donc un certain intérêt à chercher dans le domaine de l'expérimentation une épreuve simple et non discutable qui puisse infirmer ou confirmer ces constatations cliniques. A ce sujet il nous a semblé intéressant d'étudier le comportement de la barrière hémato-oculaire, en nous nous servant du test de la fluorescéine.

Nous avons tout d'abord recherché quelle pouvait être l'influence du chlorure d'acétylcholine (Roche) sur cette perméabilité hémato-oculaire, puis subsidiairement de son complexe métallique, le manganochlorure d'acétylcholine (Sapos).

Le sel manganeux de la base quaternaire a montré en effet une certaine action retard que Frommel et ses collaborateurs mettent sur le compte de sa diffusion lente au travers des membranes cellulaires[2].

[1] L. Lendle, Arch. exper. Pathol. u. Pharmakol. *197*, 519 (1941). – Hans Asen, *ib.* *204*, 67 (1947).

[2] Ed. Frommel, A. Bischler, Ph. Gold, M. Favre et F. Vallette, Schweiz. med. Wschr. *77*, 1269 (1947); *ib.* *77*, 1298 (1947). – G. H. Fallet et J. Epiney, Rev. méd. Suisse Rom. *69*, 89 (1948). – Ed. Frommel, I. T. et M. Beck et F. Vallette, Arch. internat. Pharmacodynamie et Thérapie *79*, 97 (1949). – Ed. Frommel, R. S. Mach, v. Bischler et G. H. Fallet, Schweiz. med. Wschr. *79*, 916 (1949). – Ed. Frommel, Semaine de cardiologie internationale de la Pitié. Paris, Mai 1949; Bull. acad. nation. méd. *33*, 639 (1949); Praxis *38*, 933 (1949). – J. P. Chapuis, Helv. med. acta, Serie A *16*, 318 (1949).

Technique expérimentale: Pour apprécier la quantité de fluorescéine qui passe dans la chambre antérieure de l'œil du lapin nous avons utilisé la lampe à fente. Cette méthode a été décrite par Amsler et Huber[1] et se trouve *in extenso* dans la dissertation de Haefeli[2].

L'expérimentateur introduit dans le circuit électrique de la lampe à fente une résistance variable et un ampèremètre, de telle sorte, qu'il puisse diminuer l'intensité de la source lumineuse en augmentant la résistance jusqu'à disparition de la ligne d'Ehrlich. Il suffit alors de lire sur l'ampèremètre le chiffre correspondant pour apprécier la quantité de fluorescéine dans l'humeur aqueuse.

La concentration de la fluorescéine et l'intensité du faisceau lumineux mesurées en ampères sont indirectement proportionnelles, de telle sorte que l'on peut obtenir une courbe exprimant la diffusion de la fluorescéine et en intensité et en durée.

Cette courbe a été étudiée par l'école de Zurich en utilisant le sel sodique de la fluorescéine en *i. v.* et elle présente chez l'homme normal une constante.

Nous avons injecté non le sel sodique, mais la fluorescéine dissoute à 0,3% dans de l'éthylèneglycol en *s. c.*, parce que le sel sodique par son p_H basique favorise l'hydrolyse spontanée de la base quaternaire acétylée.

L'injection sous le derme et non directement dans le torrent circulatoire a en outre l'avantage de multiplier les barrières cellulaires et de mettre ainsi plus en évidence le rôle que peuvent jouer ces obstacles; d'autre part, nous savons que soit le chlorure, soit le manganochlorure d'acétylcholine se détruisent à vitesse égale dans le sang et que cette destruction est très rapide[3], de telle

[1] M. Amsler et A. Huber, Ophthalmologica *111*, 155 (1946).

[2] W. Haefeli, Ophthalmologica *112*, 226 (1946).

[3] I. T. Beck, Ed. Frommel et M. Beck, Arch. internat. Pharmacodynamie et Thérapie *82*, 342 (1950).

Figures 1 à 4. – Courbes montrant la pénétration de la fluorescéine dans la chambre antérieure chez 4 paires de lapins.

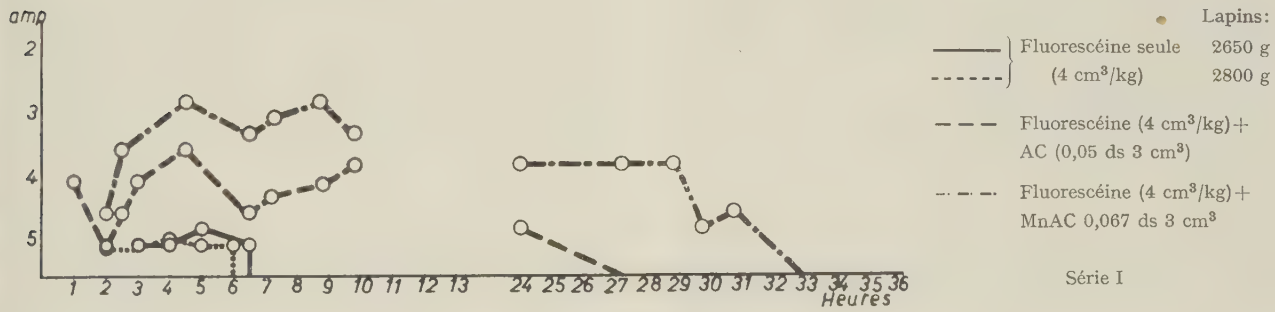

amp
2
3
4
5
1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13
24 25 26 27 28 29 30 31 32 33 34 35 36
Heures
Lapins:
Fluorescéine seule (4 cm³/kg) 2650 g
2800 g
Fluorescéine (4 cm³/kg)+ AC (0,05 ds 3 cm³)
Fluorescéine (4 cm³/kg)+ MnAC 0,067 ds 3 cm³
Série I

Fig. 1

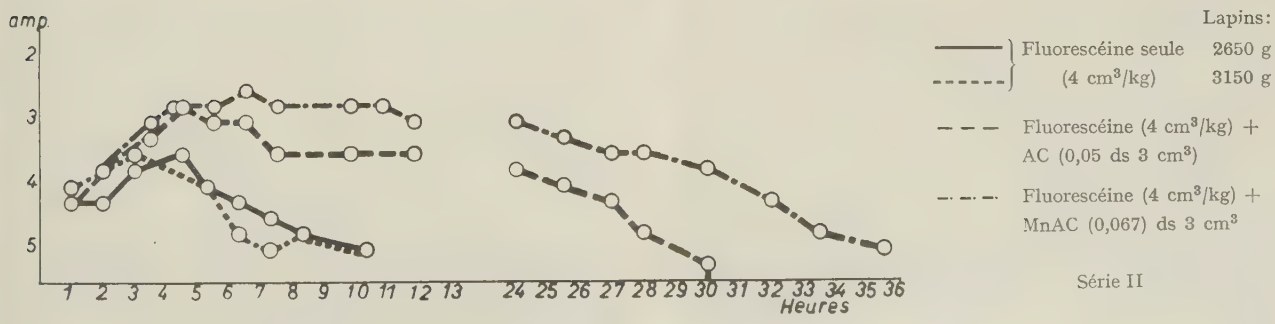

amp
2
3
4
5
1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13
24 25 26 27 28 29 30 31 32 33 34 35 36
Heures
Lapins:
Fluorescéine seule (4 cm³/kg) 2650 g
3150 g
Fluorescéine (4 cm³/kg) + AC (0,05 ds 3 cm³)
Fluorescéine (4 cm³/kg) + MnAC (0,067) ds 3 cm³
Série II

Fig. 2

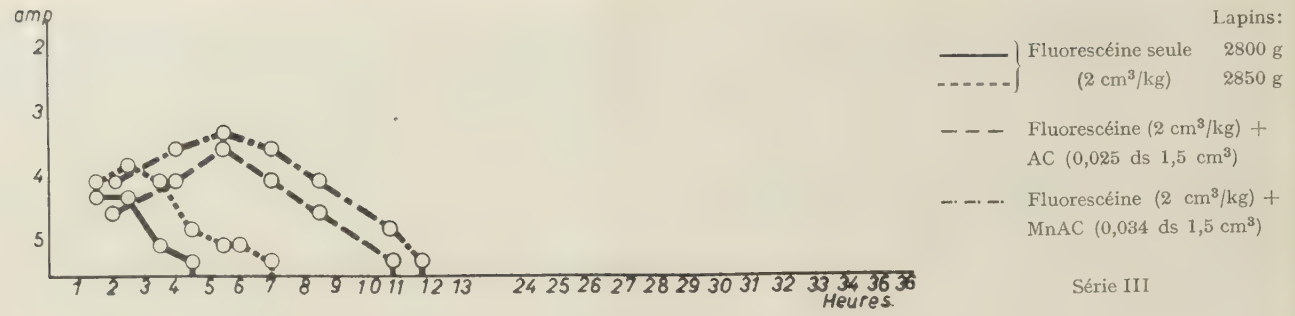

amp
2
3
4
5
1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 24 25 26 27 28 29 30 31 32 33 34 35 36
Heures
Lapins:
Fluorescéine seule 2800 g
(2 cm³/kg) 2850 g
Fluorescéine (2 cm³/kg) + AC (0,025 ds 1,5 cm³)
Fluorescéine (2 cm³/kg) + MnAC (0,034 ds 1,5 cm³)
Série III

Fig. 3

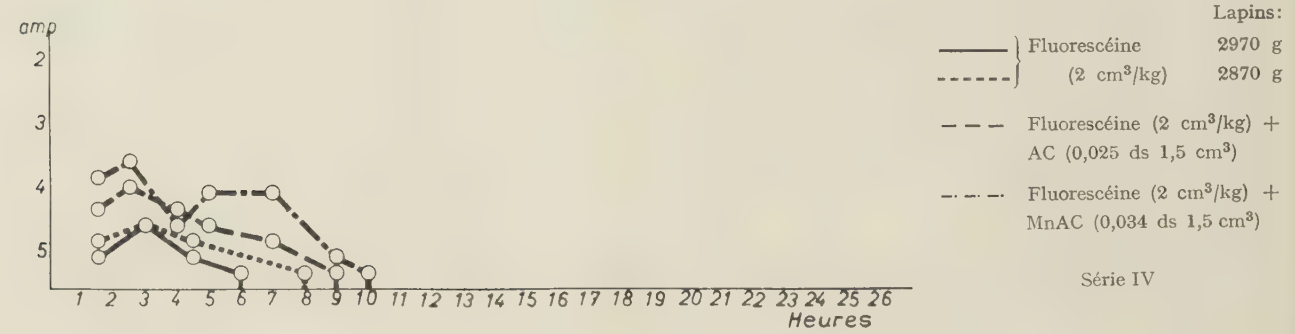

amp
2
3
4
5
1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 15 16 17 18 19 20 21 22 23 24 25 26
Heures
Lapins:
Fluorescéine 2970 g
(2 cm³/kg) 2870 g
Fluorescéine (2 cm³/kg) + AC (0,025 ds 1,5 cm³)
Fluorescéine (2 cm³/kg) + MnAC (0,034 ds 1,5 cm³)
Série IV

Fig. 4

sorte que cette voie d'administration eût été inadéquate.

Les lapins sont immobilisés dans des caissettes qui laissent dépasser la tête de l'animal. Le lapin est placé obliquement, de telle sorte que l'œil gauche se trouve devant le faisceau lumineux. Nous avons en outre pris la précaution de laisser nos animaux à l'obscurité et à une température constante pendant la journée consacrée à l'expérimentation.

Nous avons tout d'abord testé le lapin à l'injection de la seule fluorescéine; une semaine après nous avons repris ces mêmes animaux et nous leurs avons injecté parallèlement à la fluorescéine, le chlorure ou le sel manganeux de la base quaternaire acétylée (à proportion équimoléculaire de la base).

Les injections ont été faites sous la peau du dos de l'animal pour éviter l'erreur de la résorption topographique différentielle.

Résultats de l'expérimentation: Nous donnons sous forme de graphiques le résultat de nos principales expériences.

A. Franceschetti, Ed. Frommel et P. Jöhr

Clinique ophtalmologique et Institut de Thérapeutique de l'Université de Genève, le 15 août 1950.

Zusammenfassung.

Wir können die Ergebnisse unserer Versuche beim Kaninchen wie folgt kurz zusammenfassen:

1. Azetylcholin steigert die Fluoreszein-Permeabilität der Blut-Kammerwasser-Schranke.

2. Die Wirkung des Azetylcholins auf die Blut-Kammerwasser-Schranke dauert länger als die Wirkung auf Herz und Blutgefäße.

3. Die Wirkung des Manganocholins auf die Blut-Kammerwasser-Schranke hält bei entsprechender Dosierung des Wirkstoffs länger an als diejenige des Chlorhydrats.

Nouveaux livres - Buchbesprechungen - Recensioni - Reviews

Sampling Methods for Censuses and Surveys

By Frank Yates
318 pp.
(Charles Griffin & Co. Ltd., London, 1949)
(24/–)

Sowohl im praktischen Leben als auch in der Wissenschaft hat man seit jeher aus Stichproben Schlüsse von weittragender Bedeutung gezogen. Aber erst seit den grundlegenden Untersuchungen von R. A. Fisher erwachte das Bewußtsein dafür, wie wichtig es ist, sich über die Art und Weise klar zu werden, wie man auf Grund von Stichproben allgemeingültige Erkenntnisse am zweckmäßigsten ableitet. Eines der wichtigsten Ergebnisse der theoretischen und praktischen Arbeiten auf diesem Gebiete besteht in der Forderung, schon beim Planen und in der Ausführung einer Stichprobenerhebung gewisse Grundsätze zu beachten.

Ein Beispiel, wohl die erste in der Schweiz nach den Grundsätzen der neueren Methoden durchgeführte Stichprobenerhebung, möge zeigen, welche biologischen Probleme etwa in dieser Weise gelöst werden können. Die Aufgabe bestand darin, festzustellen, wie der sogenannte «eiserne Bestand» des Lärchenwicklers im Oberengadin verteilt ist. Verteilt er sich gleichmäßig über das ganze Untersuchungsgebiet, oder besteht eine Häufung in deutlich abgegrenzten Gebieten? Der hohen

Kosten wegen war es ganz ausgeschlossen, sämtliche (ungefähr) 600000 Lärchen des Gebietes einzeln abzusuchen. Man hatte sich auf eine Stichprobe zu beschränken, und zwar zeigte eine sorgfältige Vorausberechnung der Kosten, daß man sich auf etwa 2000 Bäume beschränken mußte. Die Frage, die einer Arbeitsgemeinschaft von einem Forstingenieur, einem Entomologen und zwei Statistikern gestellt war, lautete: Wie sind die 2000 Lärchen aus den vorhandenen 600000 auszuwählen, um möglichst zuverlässige Ergebnisse zu gewährleisten?

In den letzten zehn Jahren sind vor allem in England, in den USA., in Kanada und in Indien eine große Zahl von Stichprobenerhebungen sorgfältig vorbereitet und mit größtem Erfolg durchgeführt worden. Schritt für Schritt wurden dabei auch Fragen der statistischen Theorie aufgeworfen und zum großen Teil gelöst.

Das Buch von YATES will diese neueren Erkenntnisse einem weiteren Kreise vermitteln. In einem ersten Kapitel zeigt der Verfasser zunächst, wann eine erschöpfende und wann eine stichprobenweise Erhebung zu wählen sei. Das zweite Kapitel legt dar, welche Anforderungen an eine gute Stichprobe gestellt werden müssen, und im dritten Kapitel wird eine Übersicht der verschiedenen Arten zweckmäßiger Stichproben geboten. Im vierten und fünften Kapitel bespricht YATES die Vorbereitung, die Ausführung und die Auswertung einer Erhebung. Die drei letzten Kapitel sind der mehr mathematisch-statistischen Seite der Stichprobenerhebungen gewidmet, indem zunächst dargelegt wird, in welcher Weise die Schätzungen vorzunehmen sind, mit welchen Stichprobenschwankungen sie behaftet sind, und schließlich, wie man vorzugehen hat, um den günstigsten Plan für eine Stichprobenerhebung herauszufinden.

Als einer der ersten Fachleute auf diesem Gebiete wurde YATES in vielen Fällen beim Planen und Auswerten von Stichprobenerhebungen beigezogen. Der Leser des Buches hat den großen Vorzug, einen Teil der von YATES gesammelten Erfahrungen in der Form von treffenden Beispielen und Erläuterungen vor sich ausgebreitet zu sehen.

Es genügen verhältnismäßig bescheidene Kenntnisse der mathematisch-statistischen Verfahren, um das Werk mit Gewinn zu verarbeiten. Das Buch wendet sich in erster Linie an den, der die Erhebungen durchzuführen hat. Die den Methoden zugrunde liegenden mathematischen Theorien werden deshalb absichtlich nicht vorgeführt.

Es ist staunenswert, wie gut es dem Verfasser gelungen ist, aus einem noch in voller Entwicklung befindlichen Gebiet die leitenden Ideen klar herauszuarbeiten und darzustellen. Zweifellos liegt darin eine wissenschaftliche Leistung ersten Ranges, die nicht nur den Anfängern zugute kommt, sondern auch für die weitere theoretische und praktische Entwicklung der Stichprobenerhebungen befruchtend wirken wird.

A. LINDER

Das Atom endlich verständlich

Die grundlegenden Tatsachen der Atomlehre für den Bürger der Atomzeit
Von FRITZ KAHN
154 Seiten, 60 Textabbildungen
(Verlag Albert Müller, Rüschlikon 1949) (geb. Fr. 15.70)

Das Atommodell der Physiker in ein Bilderbuch für den Laien zu verwandeln, ist wohl keiner berufener als der bestbekannte Popularisator FRITZ KAHN, der schon in seinem Standardwerk *Der Mensch* Proben einer künstlerisch gestaltenden plastischen Vorstellungs- und Darstellungskraft gegeben hat. Das Werk wird mit dem instruktiven Bildermaterial seinen Eindruck auf den Bürger des Atomzeitalters nicht verfehlen.

J. O. FLECKENSTEIN

Fluorescence and Phosphorescence

By PETER PRINGSHEIM
794 pp., 219 figs.
(Interscience Publishers, New York, 1949)
($15.–)

Mit der Entwicklung der Fluoreszenzlampen, Fernseh-Leuchtschirme und optischen Bleichmittel hat seit einiger Zeit die technische Bedeutung lumineszenter Stoffe stark zugenommen. Im Zusammenhang mit dieser Entwicklung ist das Gebiet der Fluoreszenz und Phosphoreszenz in den letzten zehn Jahren ganz besonders intensiv experimentell und theoretisch bearbeitet worden. Es ist deshalb sehr zu begrüßen, daß PRINGSHEIM es übernommen hat, in seinem Buch einen kritischen und umfassenden Überblick zu vermitteln über die älteren und neueren Forschungsergebnisse, welche auf diesem stark im Fluß sich befindenden Gebiet erzielt worden sind.

Der Autor gibt eine klare Darstellung der theoretischen Auffassungen, welche über das Zustandekommen von Fluoreszenz und Phosphoreszenz entwickelt worden sind, und eine übersichtliche Beschreibung der vorliegenden zahlreichen experimentellen Untersuchungen. Auf die Besprechung von Gegenständen, die dem eigentlichen Thema nahestehen (wie die Betrachtung technischer Anwendungen oder die Besprechung verwandter Erscheinungen wie Chemolumineszenz) wird verzichtet und dafür der eigentliche Fragenkreis der Photolumineszenz um so erschöpfender behandelt. Es werden über 2000 Literaturzitate angegeben.

Der Inhalt ist zum Teil ähnlich gegliedert wie in dem kurzen Werk *Fluoreszenz und Phosphoreszenz im Lichte der neueren Atomtheorie*, welches der Autor vor 29 Jahren veröffentlicht hat. Nach einem kurzen einleitenden Überblick über die allgemeine Theorie und die experimentellen Methoden der Erforschung der Photolumineszenz wird in einem ersten Hauptteil des Werkes, welcher 252 Seiten umfaßt, die Fluoreszenz von Gasen und Dämpfen besprochen. Der zweite, 376 Seiten umfassende Hauptteil behandelt die Fluoreszenz und Phosphoreszenz kondensierter Systeme; der Reihe nach werden darin die Lumineszenz der organischen Verbindungen, der reinen anorganischen Stoffe und der Kristallphosphore behandelt. Am Schluß des Werkes folgt ein über 100 Seiten sich erstreckendes, übersichtlich angeordnetes Literaturverzeichnis.

Von besonderem Interesse erscheinen dem Referenten die Kapitel über die langsame Fluoreszenz und Phosphoreszenz organischer Verbindungen in fester Lösung, über die Lumineszenz der Uranylsalze und insbesondere der technisch wichtigen Kristallphosphore; diese Abschnitte vermitteln dem Leser einen Überblick über Teilgebiete, die in den letzten Jahren ganz besonders intensiv und erfolgreich bearbeitet worden sind.

Das Buch vermittelt einen anschaulichen Überblick über den Fragenkreis der Photolumineszenz und stellt gleichzeitig ein vortreffliches Nachschlagewerk für den Spezialisten dar.

H. KUHN

Die theoretischen Grundlagen der analytischen Chemie

Von Gunnar Hägg

Übersetzung aus dem Schwedischen von Hans Baumann

197 Seiten

(Verlag Birkhäuser, Basel, 1950)

(Fr. 22.–)

Der Verfasser hat sich die Aufgabe gestellt, die physikalisch-chemischen Grundlagen der Vorgänge in der analytischen Chemie, insbesondere in wässerigen Lösungen, in 21 knapp gefaßten Kapiteln nach modernsten Gesichtspunkten zu behandeln.

Einleitend wird das Massenwirkungsgesetz besprochen und der Begriff der Ionenaktivität erläutert. Es folgt eine kurze Besprechung über die Natur der chemischen Bindungen. Eine zentrale Stellung nimmt sodann die Brönstedsche Definition der Begriffe «Säure und Base» ein und im Zusammenhang damit der Vorgang der Protolyse. In einem kurzen Kapitel wird die Bedeutung der Aktivität für die elektrolytische Leitfähigkeit berührt und auf die besondere Stellung des Wasserstoffions hingewiesen. Die Stärke der Protolyte, die Autoprotolyse und das Ionenprodukt des Wassers bilden den Gegenstand des folgenden Kapitels. Bei der Besprechung der Abhängigkeit des Protolysengleichgewichtes vom Säuregrad wird von der sehr bewährten Darstellung im $\log c/p_H$-Diagramm nach N. Bjerrum Gebrauch gemacht und im Anschluß daran praktische Beispiele von Protolysen-Gleichgewichten besprochen. Dann folgt eine kurze Orientierung über Ampholyte. Auch den protolytischen oder p_H-Indikatoren ist ein kurzer Abschnitt gewidmet, um möglichst viel Raum für die Behandlung der protolytischen Titration, der Puffergemische, der Pufferkapazität und der Titrationsfehler bei der protolytischen Titration zu gewinnen, wobei wiederum die Darstellung im $\log c/p_H$-Diagramm mehrfach verwendet wird. Das Problem der Salzlöslichkeit und seine Beeinflussung durch die Ionen der Lösung wird unter Berücksichtigung der Ionenaktivität und mit Rücksicht auf die Bildung von komplexen Ionen diskutiert. Im Anschluß an dieses Kapitel wird der kolloide Zustand und die dadurch begünstigten Erscheinungen der Adsorption besprochen. Sodann werden die Salzfällungen in ihrer Bedeutung als analytische Bestimmungs- und Trennungsmethoden gewürdigt. Den Schluß des Buches bilden zwei Kapitel über Oxydationen und Reduktionen und ihre Verwendung in Redoxtitrationen.

Wenn auch einzelne Kapitel des Buches für den angehenden Analytiker bezüglich der Fundierung der angewandten Gleichungen wohl einzelne Wünsche offen lassen, so dürfte dies darin begründet sein, daß der Autor vor allem die Anwendung der physikalisch-chemischen Gesetze auf die Vorgänge insbesondere der Maßanalyse in einem knappen Rahmen zu geben versuchte. Die Darstellung des Textes und die Ausstattung des Buches sind vorzüglich, so daß diesem neuen Lehrbuch eine weitere Verbreitung zu wünschen ist.

W.D. Treadwell

Informations - Informationen - Informazioni - Notes

STUDIORUM PROGRESSUS

L'influence d'un extrait osseux (Ossopan) sur la consolidation de fractures *in vitro*

Par O. Bucher et J.-Th. Weil[1]

Les premiers travaux concernant le développement d'os embryonnaires dans la culture *in vitro* ont été fournis par Fell et Robison[2]. Ces auteurs ont basé leurs recherches sur des fémurs et des tibias, isolés d'embryons de Poule âgés de 5½ à 6 jours. Ils ont pu démontrer par leur méthode de culture en verre de montre que les os de cet âge possèdent une remarquable capacité d'autodifférenciation.

Animé par les travaux de Fell, Niven[3] attaqua une autre question, celle de la consolidation osseuse après traumatisme expérimental. Il constata que la régénération *in vitro* se fait plus ou moins complètement suivant l'âge des os explantés (5½ à 9 jours) et les conditions dans lesquelles les cultures sont maintenues.

Zawisch-Ossenitz[4] tenta d'influencer le développement osseux et traita dans ce but de jeunes Lapins et des Chats avec de l'extrait osseux auto- et homospécifique et put observer une augmentation de la croissance osseuse, accompagnée d'une différenciation histologique quantitativement et qualitativement supérieure. Par ailleurs Hoffmeister, Teichmann et Rothenheim, Levander, Misurski et enfin Annersten[1] étudièrent tous l'influence pharmacologique d'extrait embryonnaire et osseux sur la croissance et la différenciation des os *in vivo* et constatèrent à l'unanimité l'effet favorable de ces extraits.

Partant de ces différentes données, il nous a semblé intéressant d'étudier la consolidation osseuse *in vitro* après traumatisme expérimental sur des os embryonnaires plus âgés que ceux de Niven et par ailleurs d'examiner l'influence que pourrait avoir un extrait osseux sur le processus de réparation.

Nos investigations portèrent sur l'examen histologique de plus de 200 os longs de 50 embryons de Poule, après une durée d'incubation variant de 12 à 15 jours. Nous avons adopté pour nos recherches la méthode de culture élaborée par le Strangeways Research Laboratory à Cambridge[2] et avons cultivé nos fémurs et tibias

[1] Institut d'Histologie de l'Université de Lausanne.

[2] H.B. Fell et R. Robison, Biochem. J. *23*, 767 (1929).

[3] J.S.F. Niven, J. Pathol. and Bacteriol. *24*, 307 (1931); Arch. Exper. Zellf. *11*, 253 (1931).

[4] C. Zawisch-Ossenitz, Z. mikrok.-anat. Forsch. *23*, 169 (1930); *26*, 178 (1931); *42*, 595 (1937); Wien. Klin. Wschr. *26*, 6 (1934).

[1] W. Hoffmeister, T. Teichmann et A. Rothenheim, D. Zschr. Chir. *231*, 380 (1931). – G. Levander, Surg. Gyn. and Obst. *67*, 705 (1938). – B. Misurski, Arch. Exper. Zellf. *23*, *80* (1939). – S. Annersten, Inaug.-Diss. Uppsala 1940.

[2] H.B. Fell et R. Robison, Biochem. J. *23*, 767 (1929).

pendant une période de 1 à 12 jours *in vitro*[1]. Après prélèvement stérile de l'embryon d'un œuf de Poule nous en avons isolé les os longs des extrémités (fémur, tibia etc.), et les ayant libérés de toute la masse de tissu charnu qui leur adhère, nous avons produit une fracture plus ou moins transversale au minimum à travers la moitié de l'os périchondral de la diaphyse. Le milieu de culture sur lequel les explants furent posés se composait de plasma sanguin de Poule et de suc embryonnaire, disposé sur des verres de montres que nous placions au nombre de deux dans une boîte de Pétri. Le fond des boîtes de Pétri était recouvert d'une mince couche de ouate imbibée d'eau distillée, constituant ainsi une chambre humide. Les os, reposant sur la surface du coagulum de culture, furent ensuite placés à l'étuve à 38° C. Tous les 3 ou 4 jours les explants furent repiqués sur un nouveau milieu de culture analogue.

Les étapes principales des processus de réparation que l'on observe au niveau de l'espace interosseux sont les suivantes: vers le 3e jour environ un lâche réseau fibroblastique occupe l'espace interfragmentaire, puis vers le 4e ou 5e jour une réaction cellulaire de la couche ostéogène apparait et c'est vers le 6e jour que l'on distingue de jeunes ostéoblastes qui commencent à s'entourer de substance ostéoide, constituant ainsi l'ébauche de futurs îlots osseux néoformés. Un jour plus tard environ un fin liséré sous-périostique fait son apparition des deux côtés de la brèche interfragmentaire et c'est entre le 7e et le 9e jour que l'on observe la naissance de capuchons d'ostéoide, coiffant les anciens trabécules sectionnés et poussant à l'encontre les uns des autres. La continuité osseuse peut être rétablie dès le 10e jour et au delà ce ne sont que les processus engagés qui se prononcent. L'imprégnation de sels calcaires qui est à la base du durcissement du cal et son remaniement sont des phénomènes de réparation tardifs et n'ont pas été étudiés dans ce travail.

Nos investigations portèrent donc, contrairement à celles des auteurs précités[2] travaillant sur l'influence d'extrait osseux *in vivo*, sur le domaine de la culture *in vitro* ou plus exactement sur la réparation de fractures expérimentales en dehors de l'organisme. Il est particulièrement intéressant de noter qu'une réparation puisse se faire malgré l'élimination de la circulation sanguine, de toute connexion nerveuse ou régulation humorale et de tension musculaire. Nous avons utilisé un extrait osseux (Ossopan), fourni par les Laboratoires de la Robapharm S.A. à Bâle. Cette préparation contient la totalité d'os de jeunes animaux, y compris les épiphyses et la moelle hématopoïétique.

Nous avons ajouté au milieu de culture un peu de cette poudre jaunâtre (l'Ossopan n'est pas hydrosoluble), en la plaçant à proximité des explants sur le coagulum que nous incisions légèrement à l'aide d'un petit couteau à cataracte. L'Ossopan ne pouvant être stérilisé nous avons additionné nos milieux d'une goutte de solution pénicillinée (500 à 1000 unités par cm^3), afin d'éviter des infections bactériennes.

Les conditions expérimentales des os traités à l'extrait osseux furent absolument identiques de celles des os cultivés sur milieu habituel. Pour notre étude comparative nous avons toujours traité les os d'une extrémité d'un embryon de Poule avec de l'Ossopan et avons cultivé les os de l'autre sur un milieu à composition usuelle[1]. Nous avons vu précédemment qu'un lâche réseau fibroblastique recouvrait la brèche interfragmentaire après 3 jours de culture *in vitro*. Dans les os traités à l'extrait osseux la densité de ce réseau est plus grande, les cellules y sont plus nombreuses et l'on voit

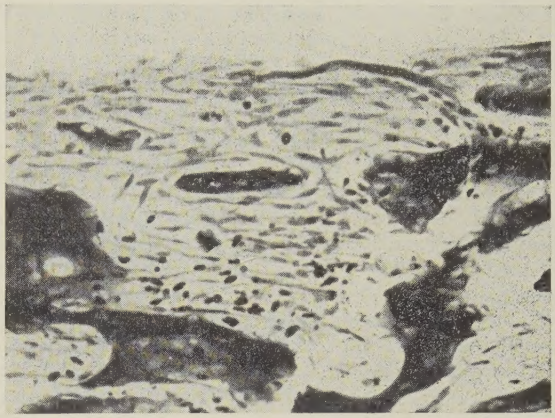


Fig. 1. – Tibia fracturé d'un embryon de Poule après une incubation de 14 jours et 3 jours de culture *in vitro* sur un milieu additionné d'Ossopan. Notez la densité du réseau cellulaire dans l'espace interosseux.

apparaître plus tôt des ostéoblastes. S'ils sont à distinguer vers le 5e ou 6e jour dans les explants non-traités, ils se trouvent déjà à partir du 4e jour dans leurs pendants influencés par l'Ossopan. Le liséré sous-périostique de substance ostéoide fait également son apparition plus tôt, mais c'est surtout et avant tout la densité cellulaire qui frappe. Elle s'étend si bien à la couche ostéogène du périoste qu'à l'aspect général des os, de la moelle osseuse

Fig. 2. – Fémur fracturé d'un embryon de Poule après une incubation de 12 jours et 7 jours de culture *in vitro* sur un milieu additionné d'Ossopan. La couche d'ostéoide sous-périostique et différents foyers de substance préosseuse sont nettement visibles.

même. Après 6 jours de culture les capuchons ostéoides, coiffant les anciens trabécules sectionnés d'une part et les lisérés sous-périostiques de l'autre, tentent à rétablir la continuité osseuse, mais là encore les os traités à l'Ossopan devancent les os de contrôle. Vers le 7e jour la substance ostéoide élaborée par les ostéoblastes présente des foyers de départ plus nombreux et est plus massive d'une façon générale.

[1] O. Bucher, Verh. Anat. Schweiz. Hochschulen, Fribourg 1949 (Ref. Schweiz. Med. Wschr. 1950). – Acta Anat. (sous presse).

[2] C. Zawisch-Ossenitz, Z. mikrok.-anat. Forsch. *23*, 169 (1930); *26*, 173 (1931); *42*, 595 (1937); Wien. Klin. Wschr. *26*, 6 (1934).

[1] J. Th. Weil, Thèse de la Faculté de Médecine de l'Université de Lausanne 1950 (sous presse).

Mais petit à petit, vers le 8e et 9e jour, on peut observer que les os cultivés sur des milieux à composition habituelle rattrappent lentement ceux, où il y avait eu addition d'extrait osseux. Si les trabécules des os sur milieu non-influencé se solidifient par apposition, si les ostéoblastes de plus en plus nombreux forment toujours davantage d'ostéoide, constituent de nombreux îlots d'os néoformé, les trabécules des os sur milieux avec Ossopan deviennent plus grêles, leur coloration reste plus pâle, les ostéoblastes sont plus petits et présentent fréquemment des noyaux pycnotiques et on ne voit apparaître que de rares îlots osseux néoformés.

Enfin vers le 10e jour les os non-traités devancent nettement leurs pendants traités. Dans les os cultivés sur milieu habituel la continuité périostique et sous-périostique est entièrement rétablie et celles des travées osseuses est assurée par les capuchons de substance préosseuse qui vient combler l'espace interfragmentaire. Il n'en est pas de même pour les os traités, là l'ostéoide semble dépérir ou tout au moins arrêter sa croissance, quoique des mitoses trouvées ça et là prouvent encore la vitalité de tels explants. L'évolution qui s'annonçait si favorable au début ne progresse plus et la brèche interosseuse redevient plus visible.

Vers le 12e jour enfin la situation n'a plus guère changé, le processus de réparation s'est poursuivi, mais à un rythme très lent. Rien de fondamentalement nouveau n'entre en jeu et les processus entâmés poursuivent leur cours, sans toutefois marcher à l'égal de l'évolution que prend le cal des os dans les séries de contrôle.

Ajoutons maintenant à cet exposé de principe quelques remarques statistiques, afin de démontrer la fréquence des cas réellement aussi favorables que ceux que nous venons de prendre comme exemple type pour notre description. Des 70 paires osseuses que nous avons pu utiliser pour notre étude comparative, 24 se sont avérés être à un stade de développement égal. Dans 14 cas les os des séries de contrôle furent plus avancés et dans 32 cas les résultats obtenus après addition d'Ossopan au milieu de culture furent supérieurs. Certes, la différence de ces deux catégories n'est pas énorme, mais n'oublions pas que nous ne pouvions guère nous attendre à un résultat plus frappant, vu les conditions déjà plus ou moins optimales dans lesquelles nos cultures sont maintenues. Leur milieu, composé de suc embryonnaire et de plasma de Poule, contient absolument toutes les substances nécessaires à leur évolution et la température réglée à un degré optimal y met du sien pour rendre les conditions de culture aussi favorables que possible. Dans de telles conditions on ne peut trop attendre d'un extrait qui amène certainement des substances activatrices et utiles, mais non pas des substances qui manquaient à nos explants. En plus, nous avons vu dans ce qui précédait que la substance active contenue dans l'extrait osseux semble avoir son point d'attaque dans l'ostéoblaste lui-même. Nous pourrons par conséquent nous attendre à une action favorable plus prononcée, lorsque nous nous trouvons en face d'une activité ostéoblastique insuffisante. En prenant en considération ces faits divers nous pouvons néanmoins reconnaître une tendance de l'Ossopan vers l'activation du développement physiologique d'une part et de la consolidation osseuse de l'autre.

Le tableau ci-dessous donne le rapport entre les os plus avancés après une durée variable *in vitro* à l'état non-influencé (série de contrôle) et après addition d'Ossopan au milieu de culture. Nous avons formé trois groupes de durée variable, le 1er de 1 à 4 jours *in vitro*, le 2e de 5 à 8 jours et enfin le 3e de 9 à 12 jours. L'étude de ce tableau démontre que la différence entre les os traités et les os non-traités est nette au début et surtout au milieu de notre durée de culture, mais qu'elle diminue et tend à s'égaliser au delà d'une durée de 8 jours. C'est donc dire en d'autres termes que l'action favorable de l'extrait osseux sur la différenciation de l'os et la consolidation de l'os fracturé s'exerce en première ligne sur les stades jeunes et que cette action stimulante se perd ou s'égalise à mesure que se prolonge la durée *in vitro*.

Durée totale *in vitro*	Nombre de paires osseuses	Egalité des 2 groupes	Différence entre les 2 groupes	
			Avance os de contrôle	Avance os traités
1 à 4 jours	21	10	3	8
5 à 8 jours	34	10	6	18
9 à 12 jours	15	4	5	6
Total	70	24	14	32

Ce résultat est d'ailleurs en accord avec les résultats obtenus par Küng[1] dans ses expériences *in vivo* sur des rats. Lui aussi a pu observer que la réparation chez les animaux traités, en avance au début, est rejointe par celle des animaux non-traités à une plus longue échéance.

Nous avons noté de manière presque constante que la taille des os traités à l'Ossopan restait en général inférieure à celle des os non-influencés. Or, nous avons dit précédemment que les extraits osseux influençaient favorablement la différenciation du cal et, comme nous savons que la croissance et la différenciation se comportent en quelque sorte comme des antagonistes, il est parfaitement compréhensible que le même facteur qui favorise d'une part la différenciation du tissu osseux, d'autre part en inhibe en même temps sa croissance.

Summary

The repair *in vitro* of long bones after experimental injury was studied and influenced with bone extract (Ossopan). The explants were cultivated by the watch-glass method in a medium of chick-plasma and embryonic extract, varying the culture time from 1 to 12 days. The bones cultivated on the above medium with addition of bone extract, showed a greater number of cells in general and particularly in the region of the callus. Osteoblasts appeared as early as the fourth day. The early appearance and quantity of the periostal osteoid tissue was striking. By the eigth day, the repair in the treated bones became slower, while the callus formation in the uninfluenced bones progressed normally. Generally the bone-continuity was more or less restablished on the tenth day. These experiments prove the clear influence of bone extract on activation of bone healing during the first 8 days following explantation.

[1] H. L. Küng, Helv. chir. acta 1950 (sous presse).

Corrigendum

E. H. Reinau, *Kohlensäuredüngung, Humus und Maximalerträge*, Exper. *6*, 396, fasc. 10 (1950): Der Autor macht uns darauf aufmerksam, daß es auf Seite 399, linke Kolonne, zwölfte Zeile von unten, heißen muß: 1200 mm Regen anstatt 12000 mm Regen.

Unsere medizinischen Spezialpräparate werden in enger Zusammenarbeit mit führenden Instituten und Kliniken mittels moderner Forschungsmethoden entwickelt.

Die Präparate unter der Marke

CILAG

werden von den Arzten wegen ihrer stets gleichbleibenden hohen Qualität und Zuverlässigkeit allgemein geschätzt.

CILAG AKTIENGESELLSCHAFT SCHAFFHAUSEN

Grosse Naturforscher

Herausgegeben von Dr. H. W. Frickhinger

Band 8

Paul Ehrlich

Schöpfer der Chemotherapie
von Dr. Hans Loewe

Mit 17 Abbildungen · 1950 · 255 Seiten 8^0
Hlw. DM. 9.50

Mit Rücksicht darauf, daß sich in Ehrlichs chemischen Gedankengängen ein und dieselbe Arbeitshypothese wie ein nie abreißender roter Faden hinzieht, hat der Verfasser zunächst den äußeren Ablauf dieses Forscherlebens geschildert und läßt dann eine kurzgefaßte Darstellung seines wissenschaftlichen Gesamtwerkes in chronologischer Anordnung folgen. Hieran anschließend folgt dann die Würdigung der Hauptarbeitsgebiete der Ehrlichschen Forschertätigkeit in mehreren in sich abgeschlossenen Kapiteln. Eine Zusammenstellung der Veröffentlichungen Paul Ehrlichs und ein ausführliches Namensverzeichnis befinden sich am Schluß des Buches.

Früher sind erschienen:

Band 1
Albertus Magnus als Biologe
Werk und Ursprung
von Prof. Dr. *Heinrich Balß*
Neue Auflage in Vorbereitung

Band 2
Ernst Abbe, Schöpfer der Zeiß-Stiftung
von Dr. *Norbert Günther*
Neue Auflage in Vorbereitung

Band 3
Humphry Davy, Jöns Jacob Berzelius
Zwei führende Chemiker aus der ersten Hälfte des 19. Jahrhunderts
von Prof. Dr. *Wilhelm Prandtl*
Mit 23 Abb., 264 Seiten, Hlw. DM 7.60

Band 4
Max von Pettenkofer
von Prof. Dr. *Karl Kißkalt*
Mit 13 Abb., 135 Seiten, Hlw. DM 4.50

Band 5
Hermann von Helmholtz
von Dr. *Hermann Ebert*
Mit 5 Abb., 199 Seiten, Hlw. DM 6.—

Band 6
Robert Wilhelm Bunsen
Lebensbild eines deutschen Naturforschers
von Prof. Dr. *Georg Lockemann*
Mit 11 Abb., 262 Seiten, Hlw. DM 9.50

Band 7
Friedrich Wöhler
von Prof. Dr. *Johannes Valentin*
Mit 8 Abb. und 1 Tafel, 178 Seiten, Hlw. DM 7.80

WISSENSCHAFTLICHE
VERLAGSGESELLSCHAFT M.B.H.
STUTTGART

Was geht in der Welt der Wissenschaft vor?

DIE UMSCHAU

in Wissenschaft und Technik

gibt Ihnen die Antwort hierauf. Seit über 50 Jahren arbeitet die «UMSCHAU» an der großen und mit der fortschreitenden Verbreiterung der Wissensgebiete immer wesentlicher werdenden Aufgabe, jedem geistig Interessierten über seine beruflichen Spezialkenntnisse hinaus zu Überblick und wirklich allgemeiner Bildung zu verhelfen. Aus der Fülle der neuen Erkenntnisse bietet die «UMSCHAU» eine sorgfältige Auswahl des Wesentlichen.

Einige Aufsätze aus den letzten Heften:

Dr. G.-W. Orth:
«Neue Blutgruppeneigenschaften»

Dr. Heinz Stephan:
«Wie verändert die Domestikation den Feinbau des Gehirnes?»

Prof. Dr. C. Hentze:
«Mythos und Ritus um Geburt und Tod»

Dr. Erwin E. Müller:
«Atome und Moleküle werden sichtbar»

Ob.-Reg.-Rat Dr. E. Köhler:
«Das Wechselspiel zwischen Virus und Wirtspflanze»

Wer über alles Neue in Naturwissenschaft, Medizin und Technik verständlich, objektiv und sorgfältig, dabei doch interessant und konzentriert, laufend unterrichtet sein will, der liest

«DIE UMSCHAU in Wissenschaft und Technik»

Bezugspreis:
Jahresabonnement (24 Hefte) Fr. 37.– frei Haus

Fordern Sie bitte Gratisheft

UMSCHAU-VERLAG FRANKFURT a.M.
Stuttgarter Straße 20–22